

河口干潟生態系保全に向けた流域起源有機物の生態学的機能評価

著者	盛田 暁子
学位授与機関	Tohoku University
学位授与番号	11301甲第17221号
URL	http://hdl.handle.net/10097/00096988

博 士 学 位 論 文

論文題目

河口干潟生態系保全に向けた

流域起源有機物の生態学的機能評価

Doctoral Thesis Title

Evaluation of ecological function of

watershed-origin organic matter for

conservation of estuarine tidal flat ecosystems

提出者

東北大学大学院工学研究科

土木工学 専攻

学籍番号 B3TD9605

氏名 盛田 暁子

Name Morita, Akiko

Abstract

Estuarine tidal flats are important habitats for various organisms, and also provide various ecosystem services, i.e. contributions to nutrient cycling, improving water quality and supply of fishery resources. In particular, biogeochemical properties of sediment, such as organic content and origin of organic matter affect oxygen consumption of sediment, nutrient cycling and food acquisition by benthic organisms in tidal flats. However, in Japan, 40% of tidal flats have disappeared according to developments. Therefore, appropriate conservation strategy based on scientific basis is required. In estuarine tidal flats, organic matter and nutrients are provided from not only offshore but also lands through river systems. Proper assessment of anthropogenic impacts on estuarine tidal flats is needed to conserve those systems.

In this study, sediment and river water were sampled from 16 estuarine tidal flats of Okinawa Island. The land use types of watersheds which connecting each of the study estuarine tidal flats were also estimated by GIS to find out statistical relationships between chemical properties of tidal flat sediments and land use characteristics. Furthermore, the effect of quality and quantity of terrestrial organic matter on growth and assimilation of macro benthos in estuarine tidal flat sediment was assessed using an estuarine polychaete species, *Hediste* sp.

The results and contributions of this thesis are summarized as follows.

1. A total of 16 estuarine tidal flats and rivers entering those estuaries in Okinawa Island of southwestern of Japan were studied in the summer of 2010. Furthermore, the effects of

watershed land use on the biogeochemical properties of estuarine tidal flat sediment and river water were statistically tested. As a result, nutrient concentrations of river water flowing through watersheds with relatively more developed lands (i.e. high agricultural and urban land use). Algal organic matter on estuarine tidal flat sediment potentially includes various spatial origins; for example, they can be produced in river water, on the surface of tidal flat sediment and/or coastal zones. In my study, estuarine tidal flat sediment which receives river water with high nutrient concentration contained more algal organic matter. This suggests that high concentration of nutrients of river water tend to result in high algal organic matter content of the tidal flat sediments. Meanwhile, in estuarine tidal flat sediment of watersheds predominated by forest, terrestrial organic matters were more abundant. However, suspended organic matter in river water did not reflect forest cover of watersheds. I hypothesize that terrestrial organic matter may be discharged to estuaries and form their sediment properties particularly during high flow.

2. The relationships of community indexes (i.e., population densities and Shannon-Wiener index) of macrobenthos with chemical and physical properties of estuarine tidal flat sediment were tested by applying the data obtained from the 16 tidal flats of Okinawa Island in summer 2010 and 2012. The densities of macrobenthos populations were estimated on the basis of functional classification (i.e. feeding and living habitat, ingestion form, preferable habitat environment). In the result, nest building and indwelling species favor sediment with relatively higher mud content. Furthermore, Shannon-Wiener index showed a significant positive correlation with C/N of sediment which is one of the indexes of accumulation of terrestrial organic matter. This

suggests that terrestrial organic matter can be an additional food option for estuarine macrobenthos and enhance biodiversity.

3. Effects of quantity and quality of terrestrial organic matter on the growth and food assimilation of macrobenthos were examined by a laboratory, feeding experiments introducing *Hediste* sp. This species is a polychaete and a representative of deposit feeder in estuarine tidal flats of northeastern Japan. In the experiment, two types of organic matter (i.e. algal and terrestrial organic matter) were separately added to polychaete mesocosms at four quantitative levels. In the result, H₂S accumulated in the sediment with relatively higher quantitative levels of organic matter at both types of organic matter. However, the survival rate of *Hediste* sp was not affected by the type of organic matter or their quantitative levels. However, the addition of algal organic matter resulted in significantly greater growth rate of *Hediste* sp compared with that of terrestrial organic matter. Nevertheless, the carbon stable isotope ratios of bulk tissue and bacterial fatty acid of *Hediste* sp. were close to that of the organic matters added to the mesocosms. These results suggest that *Hediste* sp. may assimilates terrestrial organic matter through bacterial mediation.
4. I tested the following two hypotheses by a laboratory experiment; 1) bacterial degradation of terrestrial organic matter enhance the assimilation of the organic matter by *Hediste* sp., and 2) the degree of qualitative alteration of terrestrial organic matter by bacteria. To test those hypotheses, leaf litters were incubated controlling the source of bacteria (upstream, downstream and estuary) and inorganic nutrient concentration (high or low in NO₃-N, NH₄-N and PO₄-P). After the leaf litter incubation, those leaf litters was provided to *Hediste* sp. In the result, nitrogen

content and bacterial fatty acid content in the litter was increased by the addition of nutrients. This suggests that the bacterial degradation and nitrogen assimilation from ambient water by bacteria enhances the nutritional quality of leaf litter. In addition, the leaf litter, which was incubated using the bacteria obtained from freshwater locations, showed higher nitrogen content compared with leaf litter incubated with estuarine bacteria.

Hediste sp. feeding on terrestrial organic matter incubated with higher nutrients showed higher growth rate. However, the bacterial fatty acid content in *Hediste* sp. was not significantly different between the run with different conditions of bacterial source. These suggest that *Hediste* sp. may grow substantially assimilating degraded terrestrial organic matter with high nitrogen content by bacterial mediation.

5. This study demonstrates that the land use in watersheds is a useful measure to describe the anthropogenic impacts on estuarine tidal flats. In addition, it was also implied that the macrobenthic community structure in estuarine tidal flats is characterized by the sediment types which are greatly affected by the watershed land use. Furthermore, the growth rate of *Hediste* sp. was higher when they were fed by terrestrial organic matter incubated under the conditions with freshwater bacteria and higher nutrient concentration.

Estuarine tidal flat tends to be addressed as an independent system; nevertheless it links to land and coastal zone through a river. In contrast, the results of this study suggest that to achieve sound conservation of estuarine tidal flat ecosystems, management of the watershed environment is required to take account of the fact that

watershed and riverine systems contain diverse environments;
presence of pool, riffle and sand bar as well as various land covers.

目次

第一章 総論	1
1.1. 研究の背景と目的	1
1.2. 論文の構成	3
第一章参考文献	4
 第二章 河口干潟の底生生物および底質性状におよぼす土地利用の影響に関わる 既往の研究	6
2.1. 河口干潟の底生生物と底質性状	6
2.1.1. 河口干潟の底質性状	6
2.1.2. 底生生物の出現，生息に関わる底質性状と底質形成	6
2.1.3. 生物による底質性状の改変	9
2.2. 生物への有機物の供給と餌起源の推定	9
2.2.1. 炭素・窒素安定同位体比分析	9
2.2.2. 脂肪酸組成分析，および脂肪酸安定同位体比分析	11
2.3. 土地利用の変化による河川水および河口干潟への物質負荷の変化	11
2.4. 河川からの有機物流入と河口干潟底生生物による利用	12
2.5. 課題の整理	15
第二章参考文献	16
 第三章 沖縄本島における河口干潟底質性状に及ぼす流域内土地利用の影響解析	23
3.1. 緒論	23
3.2. 調査方法	24
3.2.1. 調査対象地および試料採取方法	24
3.2.2. 化学分析の項目および方法	24
3.2.3. 流域土地利用データの収集	26
3.2.4. データ解析方法	26
3.3. 結果	27
3.3.1 流域内の各土地利用割合の関係	27

3.3.2 河川水質および河口干潟底質性状と流域内土地利用の関係	27
3.3.3 河川水質と河口干潟底質性状の関係	28
3.4. 考察	28
3.4.1 流域内における人為的土地利用が河口干潟底質の化学的性状におよぼす影響	28
3.4.2. 流域内の森林が河口干潟底質性状におよぼす影響	30
3.4.3. 河口干潟底質と流域の生物地球化学的な関係に対する流域サイズの影響	31
3.5. 結論	32
第三章参考文献	33
 第四章 沖縄本島の河口干潟における底質性状と底生生物の関係解析	47
4.1 緒論	47
4.2 調査・分析方法	47
4.2.1. 調査方法	47
4.2.2. データ解析	48
4.3. 結果	49
4.3.1. 干潟底質性状の各分析項目間の関係	49
4.3.2. 底生生物機能群および種多様性指数と底質性状の関係	49
4.4. 考察	50
4.4.1. 含泥率および有機物量の異なる地点における底質形成の化学的特徴	50
4.4.2. 河口干潟底生生物の機能群生物密度および種多様性に及ぼす底質性状の影響	51
4.5 結論	52
第四章参考文献	52
 第五章 河口干潟堆積物食者に及ぼす有機物の質・量の影響に関する実験的検討	62
5.1. 緒論	62

5.2 実験方法	63
a) 対象生物	63
b) 餌条件	63
c) 実験装置	64
d) 給餌, 水交換	64
e) サンプルング	65
5.3. 分析・測定方法	65
5.3.1. 底質酸素消費速度	65
5.3.2. 硫化水素	66
5.3.3. 脂肪酸分析	66
5.3.4. 脂肪酸炭素安定同位体比分析	66
5.3.5. データ解析	67
5.4. 結果	67
5.4.1. 有機物添加による底質への影響	67
5.4.2. <i>Hediste</i> sp.の生残率, 成長率	68
5.4.3. <i>Hediste</i> sp.の脂肪酸組成	68
5.4.4. <i>Hediste</i> sp.のバルク, および脂肪酸の炭素安定同位体比	68
5.5. 考察	69
5.5.1 陸上植物由来有機物の多量の堆積による底質悪化の可能性	69
5.5.2 <i>Hediste</i> sp.に対する陸上植物由来有機物の餌料価値	70
5.5.3 <i>Hediste</i> sp.の成長と脂肪酸含有量の関連性	71
5.6. 結論	72
第五章参考文献	73

第六章 河口干潟底生生物の成長に対する馴化過程の異なるリター起源有機物の 寄与	87
6.1 緒論	87
6.2. 実験方法	88
6.2.1. 落葉リター馴化実験	88
6.2.2. 馴化リターによる <i>Hediste</i> sp.飼育実験	89

6.3. 測定・分析	90
6.3.1. 馴化リターの酸素消費速度測定	90
6.3.2. 化学分析	90
6.3.2. データ解析	90
6.4. 結果	91
6.4.1. 馴化によるリターの化学組成変化	91
6.4.2. 馴化リターの給餌による <i>Hediste</i> sp.の成長および体組成	92
6.5. 考察	93
6.5.1. リター由来有機物の化学組成に及ぼす馴化条件の違いの影響	93
6.5.2. 異なる馴化過程を経たリター由来有機物が <i>Hediste</i> sp.の成長に及ぼす影響	94
6.6. 結論	96
第六章参考文献	97
 第七章 総括	 117
7.1. 本研究の成果と課題	117
7.2. 今後の展望	119
 謝辞	 121

第一章 総論

1.1. 研究の背景と目的

河口干潟は生物生息・生物多様性の保持をはじめ、水産資源の供給、有機物の蓄積や分解・無機化といった調整機能などの生態系サービスを提供する。干潟に生息する微細藻類は光合成による栄養塩の除去やそれに伴う一次生産によって底生生物の生息を支え、バクテリアは有機物の分解と無機化を行うことで、それぞれ河口・沿岸域の生態系サービスにおいて重要な役割を果たしている(Kang et al., 2003; Yoshino et al., 2012; Pratt et al., 2014)。大型底生生物の生息は、我々の貴重な水産資源としての存在であるとともに、その活動と浮遊・堆積有機物の同化や消費を通して河口沿岸域における物質循環を担う(Davis and Lee, 1983)。また、世界各地から飛来する渡り鳥の餌資源として生物多様性へも寄与している。このように、干潟では様々な生物の生息や、その生物の持つ機能の相互作用によって生態系のバランスが保たれている。ところが、日本においては、高度経済成長期以降の開発や環境悪化によって、干潟そのものの消失や生態系機能の低下といった問題が発生している(環境省, 2014)。そのため、現存する干潟生態系の適切な保全や損失した系の再生が課題となっている。

干潟では、物理的・化学的・地理的要因など多様な環境要因が複合的に作用することで、その場の生物生息環境や生物相が形成されている(Sakamaki and Nishimura, 2007; Sassa and Watabe, 2008; Sakamaki and Richardson, 2009)。特に、河口干潟は陸域と海域の境界に位置することから、海域だけでなく河川を通じた陸域からの物質流入の影響を受ける。陸域における土地利用は河川水質に影響を及ぼすことが知られており、河口干潟生態系の保全に向けては、流域における土地利用と河口干潟生態系の関係を明らかにする必要がある。また、河口干潟に生息する底生生物は、その場の底質性状に大きく影響を受ける。干潟に堆積する有機物は、その場の底質性状を特徴づけ、生物の餌源としても重要な

因子であることから、生物に対する流域起源の有機物の役割を土地利用と関連して明らかにすることは、河口域の生態系保全を考えるうえで不可欠である。

河口干潟に堆積する有機物は主に藻類由来有機物と陸上植物由来有機物がある。藻類由来有機物、陸上植物由来有機物はそれぞれ異なる性質および役割を有している。藻類由来有機物については底生生物の主要な餌源である反面、過剰な堆積は底悪化をもたらす可能性がある。一方、陸上植物由来有機物に関しては藻類由来有機物と比較して分解性が低いため多量の供給に対しても底質への影響は少ない可能性がある。河口干潟底生生物の餌源としては、藻類は生物に律速となりがちな窒素を豊富に含むのに対し、陸上植物は炭素に対する窒素が少なく、さらに高等植物の分解に必要なセルラーゼ活性を干潟の底生生物はあまり有していないことから、餌源としての利用は困難であるとの認識が一般的である。しかし、近年の研究から二枚貝(ヤマトシジミ *Corbicula japonica*)がセルラーゼ活性を有するという知見や(片山 2013), *Hediste* spp.による微生物を介した高等植物の同化が炭素・窒素安定同位体比を用いた調査により示唆されている(Kikuchi and Wada, 1996)。しかしながら、河口干潟に堆積する藻類由来有機物および陸上植物由来有機物の底生生物の生息や成長への役割について、その量と質の影響を同時にふまえて評価した例は見当たらない。また、土地利用と河川水質の関係についての知見は既往の研究から多く得られているものの、河口干潟底質や底生生物に対する流域環境の影響を評価した例はない。

本研究では、以下の 3 点を研究目的とした。

①流域環境が粒状有機物の堆積を介して河口干潟の底質性状に及ぼす影響を明らかにする。

②河口干潟の底生生物の生息・成長に及ぼす陸上植物由来有機物の影響を明らかにする。

③①、②の結果に基づく、河口干潟生態系保全に対して考慮すべき流域管理の方向性の提示を行う。

1.2. 論文の構成

本論文は以下に示す 7 章で構成されている。

第一章では、研究の背景と目的、および論文の構成について記した。

第二章「河口干潟の底生生物および底質性状におよぼす土地利用の影響に関わる既往の研究」では、河口干潟における底質と底生生物の役割、底生生物と底質性状との関係、流域での人為的な影響が河口干潟に及ぼす影響についての既往の研究およびその手法について整理し、課題を抽出した。

第三章「沖縄本島における河口干潟底質性状に及ぼす流域内土地利用の影響解析」では、流域環境と河口干潟底質性状の関係について明らかにするため、流域からの物質負荷を面源的に推定することのできる指標としての各種土地利用面積と、河口干潟底質性状の関係について評価を行った。様々な土地利用形態をもつ沖縄本島内 16 流域について、河口干潟底質および河口干潟に流入する河川の水質調査を行い流域内土地利用との関係について統計的に解析を行った。

第四章「沖縄本島の河口干潟における底質性状と底生生物の関係解析」では、河口干潟底質の化学的特徴と、底生生物の生息の関係性を明らかにするため、第三章と同一の 16 地点の河口干潟において底生生物調査を行い、底質性状と底生生物群集の関係について統計解析を行った。

第五章「河口干潟堆積物食者に及ぼす有機物の質・量の影響に関する実験的検討」では、第三章で生物種多様性指数と有意な関係を示した陸上植物由来有機物に着目し、藻類起源有機物と比較しながら、その量の変化が底生生物の生存・成長に及ぼす影響とその同化の有無を明らかにするため、河口干潟の代表的な底生生物である多毛類(*Hediste* sp.)に対し有機物給餌実験を行った。

第六章「河口干潟底生生物の成長に対する馴化過程の異なるリター起源有機物の寄与」では、流域内土地利用によって河川水質が異なるという知見をふまえて、陸上植物由来有機物が馴化される河川環境の違いに

着目した．異なる環境条件において馴化された陸上植物由来有機物が質的にどのように変化するのか，また，異なる馴化過程を経た陸上植物由来有機物が底生堆積物食者 *Hediste* sp.の成長におよぼす影響を明らかにするため，室内において陸上植物の馴化実験及び *Hedista* sp.への給餌実験を行った．

第七章「総括」では，本研究で得られた知見について総括としてまとめた．

第一章参考文献

- Davis, M.W., Lee, H., 1983. Recolonization of sediment-associated microalgae and effects of estuarine infauna on microalgal production 11, 227–232.
- Kang, C.K., Kim, J.B., Lee, K.S., Kim, J. Bin, Lee, P.Y., Hong, J.S., 2003. Trophic importance of benthic microalgae to macrozoobenthos in coastal bay systems in Korea: Dual stable C and N isotope analyses. Mar. Ecol. Prog. Ser. 259, 79–92.
doi:10.3354/meps259079
- Kikuchi, E., Wada, E., 1996. Carbon and nitrogen stable isotope ratios of deposit-feeding polychaetes in the Nanakita River Estuary, Japan. Hydrobiologia 321, 69–75.
doi:10.1007/BF00018678
- Pratt, D.R., Pilditch, C.A., Lohrer, A.M., Thrush, S.F., 2014. The effects of short-term increases in turbidity on sandflat microphytobenthic productivity and nutrient fluxes. J. Sea Res. 92, 170–177. doi:10.1016/j.seares.2013.07.009
- Sakamaki, T., Nishimura, O., 2007. Physical control of sediment carbon content in an estuarine tidal flat system (Nanakita River,

- Japan): A mechanistic case study. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* 73, 781–791. doi:10.1016/j.ecss.2007.03.019
- Sakamaki, T., Richardson, J., 2009. Dietary responses of tidal flat macrobenthos to reduction of benthic microalgae: a test for potential use of allochthonous organic matter. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 386, 107–113. doi:10.3354/meps08094
- Sassa, S., Watabe, Y., 2008. Threshold, optimum and critical geoenvironmental conditions for burrowing activity of sand bubbler crab, *Scopimera globosa*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 354, 191–199. doi:10.3354/meps07236
- Yoshino, K., Tsugeki, N.K., Amano, Y., Hayami, Y., Hamaoka, H., Omori, K., 2012. Intertidal bare mudflats subsidize subtidal production through outwelling of benthic microalgae. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* 109, 138–143. doi:10.1016/j.ecss.2012.05.021
- 環境省, 2014. 報道発表資料, 湿地が有する経済的な価値の評価結果について, <http://www.env.go.jp/press/files/jp/24504.pdf> 1–66.

第二章 河口干潟の底生生物および底質性状におよぼす土地利用の影響に関わる既往の研究

2.1. 河口干潟の底生生物と底質性状

2.1.1. 河口干潟の底質性状

河口干潟は河口域に位置し、干満によって底質が露出または水没する場を指す。底生微細藻類をはじめとする一次生産者や、マクロベントス、鳥類、魚類といった生物が生息し、生物生息、物質循環などの生態系サービスを提供する場として重要である(Levin et al., 2001)。干潟の底生微生物は、底生微細藻類による一次生産や底生細菌類による栄養塩循環、有機物分解機能などの生態系サービスを担い、重要な役割を果たしている。特に底生生物は水産資源やその他生物に対する餌資源としての価値に加え、その生息活動による底質の攪拌および安定化や有機物の同化を通し、干潟の物質循環を支える重要な役割を果たしている。一方、河口干潟は潮汐による干出、冠水に加え、河川水の流入を受ける場であるため、塩分勾配や栄養塩濃度など干潟環境は短時間に大きく変化する。生物間での捕食・被食等の関係に加え、このような短時間での環境変化は底生生物の生息に大きく影響し河口域の生物分布を決定する因子にもなっている。

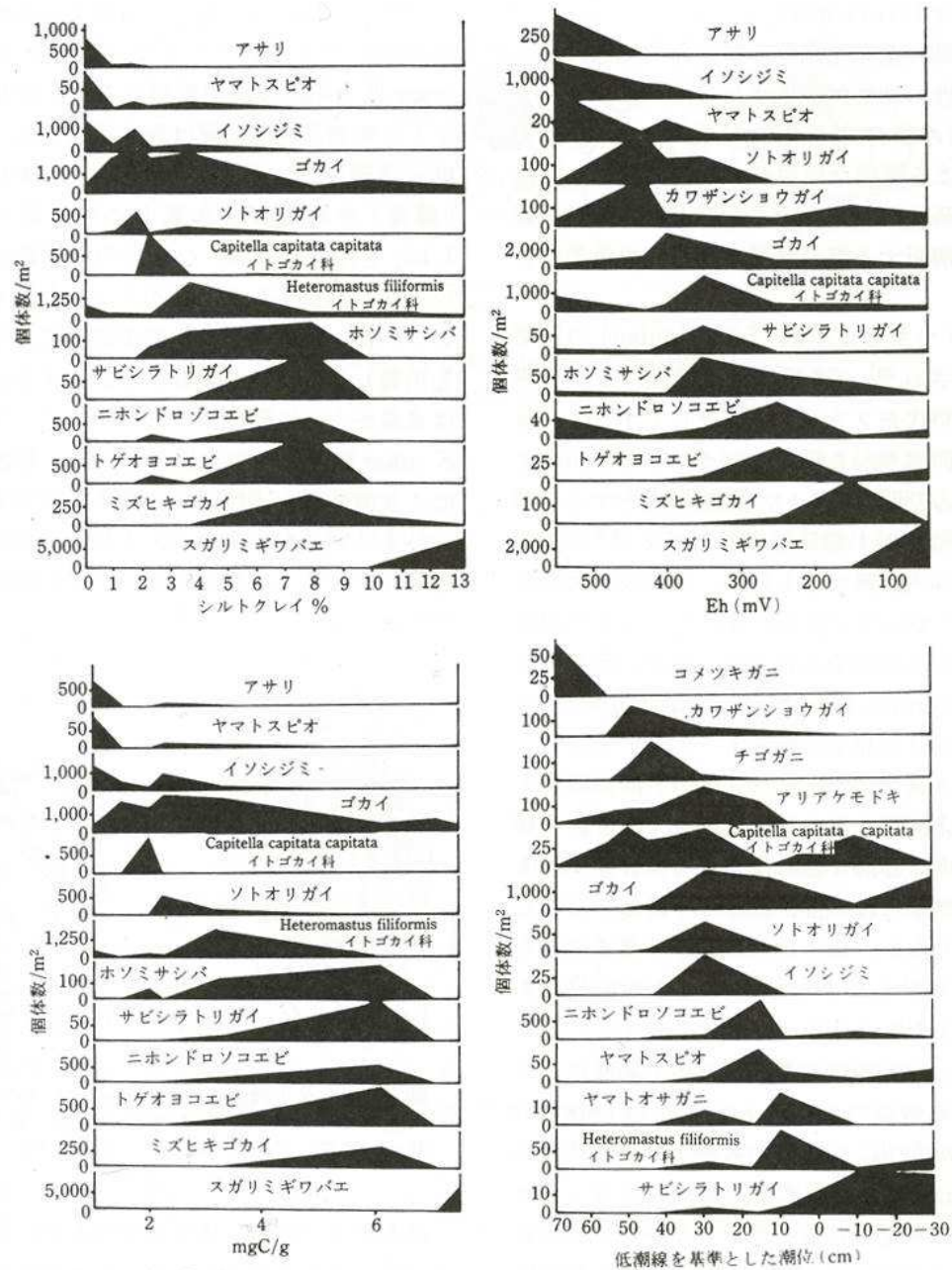
2.1.2. 底生生物の出現、生息に関わる底質性状と底質形成

河口干潟の底生生物の生息は、底質性状の物理・化学的な項目と深く関わっている(Widdows et al., 2004)。河口干潟の底質形成は波や水流による微細粒子の巻き上げ、洗い流しの影響を受ける。宮平・坂巻(2011)は沖縄県大浦川河口干潟において、底質の放射性同位体 ^{7}Be 分析による年代測定と直上水の流速調査から、河口干潟の底質形成機構が砂質、砂泥質、泥質で異なることを示している。

干潟の底生生物の分布については、干潟直上水の塩分勾配、流速、底質の粒度組成など生息環境との関係について多くの知見が得られてい

る。(例えば, 和田 and 土屋, 1975; Herman et al., 2001; Ysebaert et al., 2003; Sassa and Watabe, 2008). 現場調査に基づく底生生物の研究では, 含泥率や有機物量, 酸化還元電位, 塩分勾配などの物理・化学的項目が測定されることが多い. 栗原は宮城県蒲生干潟において, これらの項目と底生生物の分布が連動することを示している(図-2.1)(栗原(編) 1988). また, Thrush et al.(2003)は 19 の干潟調査に基づき, 13 種の生物について干潟の含泥率から各生物種の出現確率を予測するモデルを示した. しかし, それと同時に, 生物と底質性状との関係については生物出現の有無だけではなく生物の生息密度そのものが生物の生息を制限していることを指摘している.

干潟底質を構成する有機物は底生生物の餌資源として重要である一方, 過剰な有機物の堆積は底生生物の生息を制限する要因となり得ることもまた示されている(Hylland et al., 2005). 干潟において, 有機物量やその質といった底質の生物地球化学的特性は底生生物による摂食や栄養塩循環, 酸素消費に影響することが知られている(Mortimer et al., 1999; Pratt et al., 2014; Sutula et al., 2014). また, 富栄養化による有機物の過剰な蓄積は底質の還元化を進行させ, それに伴う遊離硫化水素の蓄積が底生生物の生息を強く制限することが知られている(金谷 and 菊池, 2011).



図・2 1 宮城県蒲生干潟における底生生物の分布と環境要因との関係
(栗原ら, 河口沿岸域の生態系とエコテクノロジー pp.51)

2.1.3. 生物による底質性状の改変

底質と生物の関わりは、底質性状が生物の生息を支配する一方向の関係ではなく、生物による摂餌や活動が底質性状の維持や変化に寄与することも、干潟生態系の複雑さのひとつである。干潟の底生生物はその食性によって大きくは懸濁物食者と堆積物食者に分類される。懸濁物食者は植物プランクトンなど海水中を浮遊する懸濁態有機物を濾過することで体内に取り込み、同化している。一方、堆積物食者は底質に堆積しているデトリタスを摂食している（栗原編）。土屋・栗原は、二種の堆積物食者(*Neanthes japonica*: Izuka, *Nuttallia olivacea*: Jay)と一種の懸濁物食者(*Laternula limicola*: Reeve)を用いた実験から、生物の摂餌特性や摂餌活動が底質性状の形成に寄与していることを示している（Tsuchiya and Kurihara, 1980）。生物活動による底質性状への作用、すなわちバイオターベーションは、懸濁物食者による濾過摂食と排泄に伴う泥質化、堆積物食者による微細有機物の摂食など摂餌に関するものに加え、埋在性生物の底質掘削や攪拌による底質深部への海水と酸素の供給など多種多様である（栗原編，1988）。

2.2. 生物への有機物の供給と餌起源の推定

2.2.1. 炭素・窒素安定同位体比分析

炭素、窒素の安定同位体比($\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$)は粒状有機物の起源および生物の餌起源の推定に多く用いられている（Meyers, 1994; Cloern et al., 2002）。

原子には、同じ原子番号を持ち、中性子数（質量数）の異なるものが存在する。このうち放射性崩壊を起こさず一定の割合で自然界に存在するものを安定同位体と呼ぶ。同位体元素の化学反応過程における物理・化学的効果を同位体効果とよび、天然物質での同位体比の差はこの同位体効果による。同位体効果は「安定同位体比」として数値化され、「同位体分別係数」と呼ばれる。国際標準物質として用いられるベレムナイトの化石(PDB)の ^{12}C の存在比は 98.8944%， ^{13}C は 1.1056%である。ま

た，大気中における窒素の安定同位体 ^{14}N ， ^{15}N の存在比は ^{14}N が 99.63370%， ^{15}N が 0.366.0%と，重い安定同位体の存在比は著しく小さい．そのため同位体分別係数を示す際には国際標準物質からの相対千分偏差として表され，以下の式で求められる．

$$\delta^{13}\text{C}, \delta^{15}\text{N} = \left\{ \left(R_{\text{試料}} / R_{\text{標準}} \right) - 1 \right\} \times 1000(\text{‰})$$

$R_{\text{試料}}$ ：測定試料の存在比， $R_{\text{標準}}$ ：国際標準物質の存在比

底生生物の餌起源の推定など食物網解析手法として炭素・窒素の安定同位体比を用いた手法が近年，頻繁に用いられている．安定同位体比を用いた生態系の解析については和田(1997)が詳細にまとめている．多くの陸上植物が含まれる C3 植物，サトウキビやトウモロコシに代表される C4 植物，沿岸域の藻類の間では光合成回路，炭素の同位体効果が異なる．光合成を通じた炭素固定では二酸化炭素の拡散が律速すると同位体効果は低下し，炭素安定同位体比は大きくなる．そのため，C3 植物と比べ光合成による炭素固定がより CO_2 拡散律速になる沿岸・外洋の藻類の炭素安定同位体比は陸上植物と比べ有意に高くなる．また食物網においては被食者と捕食者の間に炭素同位体効果が見られないことから，このような特徴を利用して，生物の餌起源の推定や有機物選択性の推定などに用いられている(Kanaya et al., 2008; Kanaya and Kikuchi, 2011).

窒素安定同位体比 $\delta^{15}\text{N}$ は生物の栄養段階や河川等への人為起源の窒素流入の指標として有効で(Umezawa et al., 2002; Viana and Bode, 2013)，河口域の生物化学分野や生態学分野において異地性有機物の相対的寄与の推定に用いられる(Zhou et al., 2006; Volkman et al., 2008)．窒素安定同位体比は，食物連鎖における代謝の過程で，より重い質量の ^{15}N が蓄積されるため，高次栄養段階の生物ほど高い値をとることが知られている．この特徴を利用し，食物網解析に用いられる．高次捕食者

である人間や家畜などの排泄物は高い $\delta^{15}\text{N}$ を示すことから、有機物が人為起源のものであることの指標ともなる。

2.2.2. 脂肪酸組成分析，および脂肪酸安定同位体比分析

近年，食物網解析として注目されている手法に脂肪酸分析がある．生物に含まれている脂肪酸のうち，生物自身が合成できない脂肪酸は外部から補完する必要がある，そのような脂肪酸の有無や存在量によって外部から同化している有機物を推定する手法である（Meziane and Tsuchiya, 2000; Levinton and Kelaher, 2004）．この手法は安定同位体分析とともに用いられる場合もある（Alfaro et al., 2006; Budge et al., 2008）．

Shin et al.(2012)は宮城県七北川河口の底質性状が砂質，泥質で異なる二地点において堆積有機物の脂肪酸分析を行った．その結果，砂質地点，泥質地点で堆積している有機物の起源が異なり，砂質では珪藻の他にバクテリア，海域由来有機物が主に堆積していたのに対し，泥質地点では珪藻，バクテリアの他に陸上植物由来有機物の堆積があることを示した．さらに，それぞれの地点に生息する二枚貝 *Nuttallia olivacea* と多毛類 *Hediste* spp.の脂肪酸分析の結果から，*Nuttallia olivacea* は主に珪藻を同化しており食性に強い選択性を示した一方，*Hediste* spp.については体組織中の脂肪酸組成と底質の脂肪酸組成が類似していたことから，餌選択性が低いことが示された．

2.3. 土地利用の変化による河川水および河口干潟への物質負荷の変化

集水域の土地利用は，河川水質と関連した研究が広く行われており（例えば，Jordan et al., 1997; Ngoye and Machiwa, 2004a; 木村・岡崎, 2008），河川水の栄養塩濃度は市街地や農地としての利用によって上昇し，森林や植物による土地被覆によって低下することが知られている（Basnyat et al., 1999; Ngoye and Machiwa, 2004b）．また，河川水中粒状有機物の質や量もまた流域や川岸の環境によって変化する（Frost et

al., 2009; Sakamaki and Richardson, 2011). 田林・山室(2008)は下総台地の坂川流域において支流域の土地利用と河川水質の関係について検証しており，森林割合の高い地域の河川水中イオン濃度が，都市化が進行している地域のそれと比較して小さいことを示し，森林以外の土地利用からの物質負荷が少ないためと考察している．Howarth ら(1991)は，流域から河口へ流出する有機炭素と底質量について数値モデルを用いて検討を行い，対象とした Hudson River ではその流域内に森林が優占しているにもかかわらず，有機物の流出は都市や農地からのものが圧倒的に多かったと報告している．一方，河口干潟の底質性状と集水域の特性との関係については，河口干潟底質の深さ方向での化学的特性の変化から過去数十年間での河口・陸域環境の影響を裏付けた事例がある(Bao et al., 2013)．しかし，そのような例は少なく，流域内の土地利用と河口干潟の底質性状について河口間で直接比較し，それらの関係を統計的に解析した事例はない．

2.4. 河川からの有機物流入と河口干潟底生生物による利用

河口干潟はその立地条件から，河川からの土粒子や粒状有機物などが流入・堆積する環境にある．そのため河口域生態系の理解には，河川を通じて流下する物質と河口域生物との関係について焦点を当てる必要がある．

河川から流下する有機物のうち陸域由来の物質として特徴的なものが陸域の森林から供給される陸上植物由来有機物である．陸上植物由来有機物の河口干潟底生生物による利用やその寄与は，近年，いくつかの生物種について報告されている．森若ら(2005)は，ヨコエビを用いた実験において，陸上植物と海草との混合による成長速度の上昇と摂食量の増加を示した．片山(2014)は牧草および牧草と海草の混合試料でヤマトシジミを飼育した実験において，混合飼料の給餌でヤマトシジミの成長速度が上昇することを示した．片山はこの結果について，藻類のみでは不足した炭素源を炭素含有量の多い陸上植物である牧草から補ったた

めと考察している．一方，Kochi(2007)は端脚類 *Anisogammarus pugettensis* を用いた実験から，*A. pugettensis* は陸域由来有機物を餌料として利用することもあるものの，その主な利用は捕食者からの隠れ処としての利用が大きいと結論付けている．また，Sakamaki ら(2009)は端脚類 *Corophium spinicorne* および二枚貝 *Macoma balthica* を対象とし，陸域由来有機物と底生藻類由来有機物の底生動物に対する餌源としての寄与について，各有機物の現存量の相対的な変化に着目した現場実験を行っている．その結果，生物による堆積有機物の食物源としての利用は，対象とする生物の食物選択性，起源の異なる堆積有機物の相対的な量・質によって異なることを示唆している．

河川を通じて流下する陸上植物由来有機物としては，上流域では河川に落下する落葉があげられる．河川に落下した落葉はいくつかの分解過程を受けて食物網に組み込まれ，河川生態系でも重要な存在である(図-2.2)(中村(編)2013)．河川における落葉の分解は細菌・真菌類による微生物分解を起点とする．河川水中に到達し細菌や真菌類などの付着および微生物分解が進行した落葉は，河川底質に生息する水生昆虫などの破碎食者によって摂食され，その排泄物を堆積物食者や懸濁物食者が摂食する．森林由来有機物は河川においてこのような複雑な食物連鎖の過程を経て細粒化し，河口域へと流下していく．

着目して行われた研究例がいくつかあるものの、森林から供給された植物由来有機物と河口生物との関連性といった陸域環境から河口環境までを連続的にとらえた研究例は少ない。

2.5. 課題の整理

本章では既往の研究および文献について整理し、得られた知見に基づいて研究課題を抽出した。

- 1) 河口干潟の底生生物の生息は干潟における生態系サービスを支えるうえで重要であり、その生息や分布の決定因子は底質性状に因るところが大きい。生物の持つ掘削能力などの生息形態や、堆積物食、懸濁物食といった摂餌機能、餌選択性といった生物の特徴に対する底質性状の物理・化学的適合性が、生物の分布に深く関わっていると考えられる。生物群集と底質との関係について規則性を見出すことは、生態系保全の観点からも重要な課題である。
- 2) 河口干潟はその立地から海域からの影響に加え、陸域からの影響を受けることが考えられる。しかしながら、陸域から河口域までを連続的な環境として捉えた研究は少なく、陸域における人間活動が河口干潟の生態系および生物生息因子として重要な底質性状に及ぼす影響についての一般的な知見は得られていない。近年になって、陸域における森林と沿岸域の生態系との関係について注目した環境保全の動きがあるが、その科学的根拠は確立されているとは言えず、陸域環境と河口域生態系との関係についてはさらなる知見の蓄積が必要である。
- 3) 陸域における人為的改変として土地利用の変化が挙げられるが、土地利用の変化は河川水質との関連を取り上げた研究例は多くある。一方で、河口域生態系に及ぼす影響についての調査・研究が行われた例は限られる。特に、土地利用と河口干潟底質を直接関連付けて行われた例は少なく、底質性状を土地利用によって統計的に説明した例は見当たらない。土地利用は人間活動の結果として大きく変化

しやすく，陸域と連続的な関係にある河口環境との関係を明らかにする必要がある．

- 4) 河口干潟の底生生物にとって藻類由来有機物は餌源として有効である一方，その過剰な堆積は底質悪化の要因となる．河口干潟に堆積する有機物の底生生物への寄与はその有機物の質および量で異なることが考えられる．しかし陸上植物由来有機物に関しては，多量の堆積による底質への影響やまた底生生物への餌源としての寄与など知見は未だ乏しい．よって底生生物や底質環境に対する量の異なる陸上植物由来有機物の影響を明らかにすることは，河口域の生態系保全を考えるうえで重要な課題である．
- 5) 陸上植物由来有機物の河口域生物への影響は，その分の進行の程度によっても異なることが考えられる．分解過程やその進行の程度は，流下する距離や滞留する環境などによって様々であると考えられる．しかしながら，そのような分解の過程や環境の違いに着目して陸上植物の分解および生物に対する影響を取り上げた研究は見当たらない．陸上植物由来有機物の河口域生態系への影響については，その流下過程での質的变化を考慮に入れた更なる知見の蓄積が必要である．

第二章参考文献

Alfaro, A.C., Thomas, F., Sergent, L., Duxbury, M., 2006.

Identification of trophic interactions within an estuarine food web (northern New Zealand) using fatty acid biomarkers and stable isotopes. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* 70, 271–286.

doi:10.1016/j.ecss.2006.06.017

Alongi, D.M., 1987. The influence of mangrove-derived tannins on intertidal meiobenthos in tropical estuaries. *Oecologia* 71, 537–540. doi:10.1007/BF00379293

- Bao, H., Wu, Y., Unger, D., Du, J., Herbeck, L.S., Zhang, J., 2013.
Impact of the conversion of mangroves into aquaculture ponds on the sedimentary organic matter composition in a tidal flat estuary (Hainan Island, China). *Cont. Shelf Res.* 57, 82–91.
doi:10.1016/j.csr.2012.06.016
- Basnyat , Lawrence D. Teeter, P., Flynn, K.M., Lockaby, B.G., 1999.
Relationships between landscape characteristics and nonpoint source pollution inputs to coastal estuaries. *Environ. Manage.* 23, 539–549. doi:10.1007/s002679900208
- Basnyat, P., Teeter, L.D., Flynn, K.M., Lockaby, B.G., 1999.
Relationship between landscape characteristics and nonpoint source pollution inputs to coastal estuaries. *Environ. Manage.* 23, 539–549.
- Budge, S.M., Wooller, M.J., Springer, A.M., Iverson, S.J., McRoy, C.P., Divoky, G.J., 2008. Tracing carbon flow in an arctic marine food web using fatty acid-stable isotope analysis. *Oecologia* 157, 117–129. doi:10.1007/s00442-008-1053-7
- Cloern, J.E., Canuel, E.A., Harris, D., 2002. Stable carbon and nitrogen isotope composition of aquatic and terrestrial plants of the San Francisco Bay estuarine system. *Limnol. Oceanogr.* 47, 713–729. doi:10.4319/lo.2002.47.3.0713
- Frost, P.C., Kinsman, L.E., Johnston, C.A., Larson, J.H., 2009.
Watershed discharge modulates relationships between landscape components and nutrient ratios in stream seston. *Ecology* 90, 1631–1640. doi:10.1890/08-1534.1
- Herman, P.M.J., Middelburg, J.J., Heip, C.H.R., 2001. Benthic community structure and sediment processes on an intertidal flat: Results from the ECOFLAT project. *Cont. Shelf Res.* 21, 2055–2071. doi:10.1016/S0278-4343(01)00042-5

- Howarth, R.W., Fruci, J.R., Sherman, D., Applications, S.E., Feb, N., 1991. Inputs of sediment and carbon to an estuarine ecosystem : influence of land use. *Ecol. Appl.* 1, 27–39.
- Hyland, J., Balthis, L., Karakassis, I., Magni, P., Petrov, A., Shine, J., Vestergaard, O., Warwick, R., 2005. Organic carbon content of sediments as an indicator of stress in the marine benthos. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* doi:10.3354/meps295091
- Jordan, T.E., Correll, D.L., Weller, D.E., 1997. Effects of agriculture on discharges of nutrients from coastal plain watersheds of Chesapeake Bay. *J. Environ. Qual.* 26, 836.
doi:10.2134/jeq1997.00472425002600030034x
- Kanaya, G., Takagi, S., Kikuchi, E., 2008. Dietary contribution of the microphytobenthos to infaunal deposit feeders in an estuarine mudflat in Japan. *Mar. Biol.* 155, 543–553.
doi:10.1007/s00227-008-1053-5
- Kochi, K., Sakurai, I., Yanai, S., 2007. Role of forest-origin coarse particulate organic matter for the brackish water amphipod *Anisogammarus pugettensis*. *Japanese Society Fish. Oceanogr.* 71(4), 255–262.
- Levin, L.A., Boesch, D.F., Covich, A., Dahm, C., Erséus, C., Ewel, K.C., Kneib, R.T., Moldenke, A., Palmer, M. a., Snelgrove, P., Strayer, D., Weslawski, J.M., 2001. The function of marine critical transition zones and the importance of sediment biodiversity. *Ecosystems* 4, 430–451.
doi:10.1007/s10021-001-0021-4
- Levinton, J., Kelaher, B., 2004. Opposing organizing forces of deposit-feeding marine communities. *J. Exp. Mar. Bio. Ecol.* 300, 65–82. doi:10.1016/j.jembe.2003.12.008

- Meyers, P.A., 1994. Preservation of elemental and isotopic source identification of sedimentary organic matter. *Chem. Geol.* 114, 289–302. doi:10.1016/0009-2541(94)90059-0
- Meziane, T., Tsuchiya, M., 2000. Fatty acids as tracers of organic matter in the sediment and food web of mangrove/intertidal flat ecosystem, Okinawa, Japan. *Mar Ecol Prog Ser* 200, 49–57. doi:10.1016/S1385-1101(01)00092-2
- Mortimer, Davey Krom, M.D., Watson, P.G., Frickers, P.E., Clifton, R.J., 1999. The effect of macrofauna on orewater profiles and nutrient fluxes in the intertidal zone of the humber estuary. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* 48, 683–699. doi:10.1006/ecss.1999.0479
- Ngoye, E., Machiwa, J.F., 2004a. The influence of land-use patterns in the Ruvu river watershed on water quality in the river system. *Phys. Chem. Earth, Parts A/B/C* 29, 1161–1166. doi:10.1016/j.pce.2004.09.002
- Ngoye, E., Machiwa, J.F., 2004b. The influence of land-use patterns in the Ruvu river watershed on water quality in the river system. *Phys. Chem. Earth.* doi:10.1016/j.pce.2004.09.002
- Pratt, D.R., Pilditch, C.A., Lohrer, A.M., Thrush, S.F., 2014. The effects of short-term increases in turbidity on sandflat microphytobenthic productivity and nutrient fluxes. *J. Sea Res.* 92, 170–177. doi:10.1016/j.seares.2013.07.009
- Sakamaki, T., Richardson, J., 2009. Dietary responses of tidal flat macrobenthos to reduction of benthic microalgae: a test for potential use of allochthonous organic matter. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 386, 107–113. doi:10.3354/meps08094
- Sakamaki, T., Richardson, J.S., 2011. Biogeochemical properties of fine particulate organic matter as an indicator of local and

- catchment impacts on forested streams. *J. Appl. Ecol.* 48, 1462–1471. doi:10.1111/j.1365-2664.2011.02038.x
- Sassa, S., Watabe, Y., 2008. Threshold, optimum and critical geoenvironmental conditions for burrowing activity of sand bubbler crab, *Scopimera globosa*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 354, 191–199. doi:10.3354/meps07236
- Shin, W.-S., Fujibayashi, M., Nomura, M., Nakano, K., Nishimura, O., 2012. Fatty acid composition between *Nuttallia olivacea* and *Hediste* spp. in the Nanakita estuary, Japan: estimation of food sources. *J. Water Environ. Technol.* 10, 11–22. doi:10.2965/jwet.2012.11
- Sutula, M., Green, L., Cicchetti, G., Detenbeck, N., Fong, P., 2014. Thresholds of adverse effects of macroalgal abundance and sediment organic matter on benthic habitat quality in estuarine intertidal flats. *Estuaries and Coasts*. doi:10.1007/s12237-014-9796-3
- Thrush, S.F., Hewitt, J.E., Norkko, A., Nicholls, P.E., Funnell, G.A., Ellis, J.I., 2003. Habitat change in estuaries: predicting broad-scale responses of intertidal macrofauna to sediment mud content. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 263, 101–112. doi:10.3354/meps263101
- Tsuchiya, M., Kurihara, Y., 1980. Effect of the feeding behaviour of macrobenthos on changes in environmental conditions of intertidal flats. *J. Exp. Mar. Bio. Ecol.* 44, 85–94.
- Umezawa, Y., Miyajima, T., Yamamuro, M., Kayanne, H., Koike, I., 2002. Fine-scale mapping of land-derived nitrogen in coral reefs by $\delta^{15}\text{N}$ in macroalgae. *Limnol. Oceanogr.* 47, 1405–1416. doi:10.4319/lo.2002.47.5.1405

- Viana, I.G., Bode, A., 2013. Stable nitrogen isotopes in coastal macroalgae: Geographic and anthropogenic variability. *Sci. Total Environ.* 443, 887–895. doi:10.1016/j.scitotenv.2012.11.065
- Volkman, J.K., Revill, A.T., Holdsworth, D.G., Fredericks, D., 2008. Organic matter sources in an enclosed coastal inlet assessed using lipid biomarkers and stable isotopes. *Org. Geochem.* 39, 689–710. doi:10.1016/j.orggeochem.2008.02.014
- Widdows, J., Blauw, A., Heip, C., Herman, P., Lucas, C., Middelburg, J., Schmidt, S., Brinsley, M., Twisk, F., Verbeek, H., 2004. Role of physical and biological processes in sediment dynamics of a tidal flat in Westerschelde Estuary, SW Netherlands. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 274, 41–56. doi:10.3354/meps274041
- Ysebaert, T., Herman, P.M.J., Meire, P., Craeymeersch, J., Verbeek, H., Heip, C.H.R., 2003. Large-scale spatial patterns in estuaries: estuarine macrobenthic communities in the Schelde estuary, NW Europe. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* 57, 335–355. doi:10.1016/S0272-7714(02)00359-1
- Zhou, J., Wu, Y., Zhang, J., Kang, Q., Liu, Z., 2006. Carbon and nitrogen composition and stable isotope as potential indicators of source and fate of organic matter in the salt marsh of the Changjiang Estuary, China. *Chemosphere* 65, 310–7. doi:10.1016/j.chemosphere.2006.02.026
- 宮平讓, 坂巻隆史, 2011. 水理観測と同位体分析に基づく干潟底質細粒画分の動態解析. *土木学会論文集D(環境)* 67, 69–77.
- 金谷弦, 菊池永祐, 2011. 富栄養化が汽水域の底生生態系に及ぼす影響. *地球環境* 16 No.1, 33–44.
- 森若暖子, 柳井清治, 河内香織, 2005. 河畔林から硫化した落葉が河口底生動物の成長に与える影響. *土木学会第59会年次学術講演会* 221–222.

- 田林雄, 山室真澄, 2008. 都市化地域における土地利用と河川水質の関係 -下総台地の坂川流域における事例-. 土木学会論文集 52, 1129-1134.
- 木村ドロテア園子, 岡崎正規, 2008. 多摩川流域における土地利用と河川水窒素濃度との関係. J. Geog. 117(2), 553-560.
- 和田英太郎, 1997. 安定同位体比精密測定法による陸上生態系の解析. 日本生態学会誌 47, 333-336.
- 和田恵次, 土屋誠, 1975. 蒲生干潟における潮位高と底質からみたスナガニ類の分布. Japanese J. Ecol. 25, 235-238.
- 土屋誠, 1988. 食物関係と環境特性, 河口・沿岸域の生態学とエコテクノロジー, 栗原康編, 東海大学出版会, pp43-84
- 高井則之, 富永修, 2008. 安定同位体比分析を始める人たちへ, 安定同位体スコープで覗く海洋生物の生態-アサリからクジラまで, 富永修, 高井則之編, 恒星社厚生閣, pp9-30
- 吉村千洋, 2013, 有機物の流れ, 河川生態学, 中村太士編, 講談社, pp34-46
- 片山亜優, 2013, ヤマトシジミ *Corbicula japonica* の生物生産構造に関する研究, 東北大学大学院農学研究科博士論文

第三章 沖縄本島における河口干潟底質性状に及ぼす流域内土地利用の影響解析

3.1. 緒論

多くの流域において、土地被覆は市街地化、農地化といった様々な人間活動によって改変され、河川を通じて輸送される物質の質や量に反映されている(Young et al., 1999; Ahearn et al., 2005; Sakamaki and Richardson, 2011). そのため、河口干潟底質の化学的特性と流域の土地被覆の関係を明らかにすることは、河口干潟への人間活動の影響を評価するうえで重要である. しかし、流域における土地被覆が河口干潟底質の化学的指標に対しどのように影響を及ぼしているのか、そもそもそのような有意な関係性があるのかといった点を検討した研究例は見当たらない.

河口干潟底質の化学的特性は流域や沿岸域など隣接した系からの物質流入に加え、流速や流向といった水理学的因子や、地形、底生生物による生物的な代謝などその他様々な因子の影響を受ける. 河口環境を支配するこのような複雑な過程は、河口域における流域の影響を不明瞭なものにし、河口域における化学的特徴と流域内土地被覆の関係についての一般的な理解を困難にしている. さらに、一般的に、底質性状は河口内、河口間で空間的に異なる(Sakamaki et al., 2010). そのため、河口干潟における流域内の土地被覆の影響について一般性のある知見を得るためには、適正なデザインに基づいたデータサンプリングおよび統計解析が行われる必要がある. 特に、様々な河口について横断的にあらゆる化学的特性について測定する必要がある、それぞれの河口が属する流域環境との関係を解析する必要がある. Sakamaki ら(2010)は、北大西洋沿岸 20 流域の現場調査における河口内、河口間の様々な底質特性の比較から、河口干潟底質の流域由来有機物含有量と流域サイズに有意な関係があることを報告している. この事例は、安定同位体比などの化学

的指標の応用と、現場における適正なサンプリングデザインおよび統計解析を併用することの有効性を示唆している。

本章では、河口干潟の底質性状に対する流域内土地利用の影響、および各種土地利用に対応する河口干潟底質の化学的特徴とその形成機構を明らかにすることを研究の目的とした。本章では沖縄本島内において、森林、市街地、農地などの土地利用形態の割合が異なる 16 流域の河口干潟について調査を行い、河口干潟底質性状に及ぼす流入河川水質および各河口干潟が属する流域の各種土地利用割合の影響について検討した。

3.2. 調査方法

3.2.1. 調査対象地および試料採取方法

2010 年 9 月~10 月、沖縄本島内の 16 流域について、各流域の河口に位置する干潟およびそこへ流入する河川を対象とし調査を行った(図-3.1)。対象流域の最大流域面積は 16.5km^2 、最小流域面積は 0.4km^2 、平均 5.1km^2 であった。2010 年夏季大潮の干潮時の各河口干潟において干出域の海側端(L)、感潮域の上流端(U)、およびその中間付近(M)に調査地点を設け各地点において表層底質のコアサンプル(深さ約 7cm、直径約 12cm)を 3 サンプルずつコアサンプラーにより採取した。底質はクーラーボックスに入れて実験室に持ち帰った。また、各河口干潟へ流入する河川水を、周囲の植生や河道内の付着生物相等から海水の遡上がないと判断される地点にて平水時に採取した。

3.2.2. 化学分析の項目および方法

a) 底質含泥率

採取した表層から深さ 7cm までの底質サンプルを乾燥機内で十分乾燥させて重量を計測したのち、流水中でふるい分けにより $63\mu\text{m}$ 以下粒子を取り除いた。再び乾燥・計量し、ふるい分け前後の重量差から含泥率を求めた。

b) 干潟底質中クロロフィル *a* およびフェオフィチン *a*

実験室において表層 1cm の底質を直径 1cm のコアサンプラーを用いて各底質試料から採取した。そして、採取した底質試料をプラスチックバイアル中で 90%アセトンに浸漬して冷蔵条件下で 24 時間抽出後、分光光度計(日本分光 V-630)を用いて吸光度を測定した。色素量は Lorenzen 法(Lorenzen, 1967)に従ってクロロフィル *a*(Chl.*a*), フェオフィチン *a*(Pheo.*a*)量を計算し、色素抽出に使用した底質の乾燥重量当たりの色素量として求めた。

c) 干潟底質および河川水中懸濁物中の有機炭素・窒素

含泥率分析の際ふるい分けられた 63 μ m 以下の泥分については、回収後、炭酸塩を除去するため、プラスチックバイアル中で 10%塩酸に浸し約 1 日静置した。その後、塩酸をさらに加えて気泡が出なくなったことを目視で確認したのち遠心分離機にかけて上澄みを捨てた。その後イオン交換水を加えて十分攪拌し、遠心分離器にかけ上澄みを捨てる作業を 3 回繰り返す、塩酸を洗浄した。また、河川水中懸濁物についてはアスピレーターを用いて河川水を濾過し、ガラス繊維ろ紙 (Whatman GF/F) 上に集積した。ろ過後、アスピレーター上のろ紙上に塩酸を滴下し、気泡が発生しないことを目視で確認したのちイオン交換水をアスピレーターで吸引して塩酸を洗浄した。酸処理を終えたサンプルは、乾燥後(60°C, 24 時間以上)元素分析前処理装置付同位体質量分析計により、炭素・窒素含有量およびそれら元素の安定同位体比($\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$)の測定に供した。

d) 河川水中溶存態栄養塩

硝酸態窒素($\text{NO}_3\text{-N}$), 亜硝酸態窒素($\text{NO}_2\text{-N}$)はナフチルエチレンジアミン吸光光度法, アンモニア態窒素($\text{NH}_4\text{-N}$)はインドフェノール青発色 CFA 法, リン酸態リン($\text{PO}_4\text{-P}$) 濃度はモリブデン青法により, そ

れぞれオートアナライザー(QuAAtro 2HR, BLTEC)を用いて分析を行った．溶存態全リン(DTP), 溶存態全窒素(DTN)は水酸化ナトリウムおよびペルオキシニリン酸カリウムを用いて有機窒素を分解し, オートアナライザー(TRACCS800, BLTEC)により分析した．

3.2.3. 流域土地利用データの収集

対象干潟が属する流域について, 国土地理院基盤地図情報に基づき, 流域面積に対する土地利用種ごとの面積割合を, GIS ソフト(SuperMap6)を用いて算出した．土地利用は森林, 農地, 市街地の3種に分類し, それ以外の類似した項目は基本的に上述3種のいずれかの項目に分類した．田は農地に, 荒れ地・建物用地・幹線交用地は市街地にそれぞれ分類した．上述3種の分類のいずれにも該当しないと思われる項目や極端に面積割合の小さい土地利用種別は, 解析に用いなかった．

3.2.4. データ解析方法

干潟底質性状の各分析項目については, 各河口干潟及びそこにネストさせた各河口干潟内調査地点(U, M, L)を説明因子とした Two-way Nested ANOVA を行った結果, すべての項目において河口内での分散よりも河口間での分散が大きいことが示された．このことから, 河口内地点(U, M, L)の平均値を対象河口干潟の代表値として解析に用いた．

対象流域内の各種土地利用種間の関係を把握するため相関分析を行った．つぎに土地利用, 河川水質, 底質性状の各項目間で有意な関係のある因子を探索するため, 河口干潟底質性状を目的変量, 土地利用面積割合を説明変量とした冗長性分析(以後 RDA(A)), および河川水質を目的変量, 土地利用面積割合を説明変量とした冗長性分析(RDA(B)), 河口干潟底質性状を目的変量, 河川水質を説明変量とした冗長性分析(RDA(C))を行った．これらの RDA の結果から特に重要性が示唆された変量間の関係については, さらに単回帰分析によってそれぞれの関係の有意性を検定した．

回帰分析については、各土地利用割合を説明変量、河川水中各態無機栄養塩濃度($\text{PO}_4\text{-P}$, $\text{NH}_4\text{-N}$, $\text{NO}_3\text{-N}$)および河川水中懸濁態有機物の化学組成(C/N_{RP} , $\delta^{13}\text{C}_{\text{RP}}$, $\delta^{15}\text{N}_{\text{RP}}$; RP: Riverine Particle), 河口干潟底質の $63\mu\text{m}$ 以下粒子中の化学分析項目 $\text{Chl.}a$, $\text{Pheo.}a$, C/N_{ES} , $\delta^{13}\text{C}_{\text{ES}}$, $\delta^{15}\text{N}_{\text{ES}}$; ES: Estuarine Sediment)をそれぞれ目的変量とした単回帰分析を行った。これらの単回帰分析は、得られた標本が少数であり残差の正規性が認められないケースも含まれていることから、3000 回のリサンプリングに基づくブートストラップ法により行った。これらのブートストラップ回帰分析では、回帰係数の 95%信頼区間が 0 を含まない場合を有意と判断した。

なお、RDA および回帰分析については、標準化したデータを用いた。また、全ての統計解析は、R(ver.3.1.1)を用いて行った。

3.3. 結果

3.3.1 流域内の各土地利用割合の関係

市街地面積割合および農地面積割合は、森林面積割合と有意な負の関係を示した(図-3.2)。一方、市街地面積割合と農地面積割合の関係は、市街地面積割合が約 20%以下で正の関係であったが、20%以上では負の関係へ転じて市街地の増加とともに農地面積割合が減少した。

3.3.2 河川水質および河口干潟底質性状と流域内土地利用の関係

RDA(A)モデルでは、土地利用面積割合は第二軸までで河口干潟底質性状の 27.9%(RDA1: 23.1%, RDA2: 4.8%)を説明した(図-3.3(a))。RDA(B)では土地利用面積割合は第二軸までで河川水質の変動の 37.6%(RDA1: 28.8%, RDA2: 8.8%)を説明した(図-3.3(b))。単回帰分析の結果より、河川水中 $\text{PO}_4\text{-P}$, $\text{NH}_4\text{-N}$ および $\text{NO}_3\text{-N}$ の濃度は森林面積割合と有意な負の関係を示した(表-3.1)。さらに河川水中 $\text{NO}_3\text{-N}$ 濃度は農地面積割合と有意な正の関係を示し、 $\text{PO}_4\text{-P}$ および $\text{NH}_4\text{-N}$ 濃度は市街地面積割合と有意な正の関係を示した。 $\delta^{15}\text{N}_{\text{RP}}$ (RP: riverine

particulate organic matter)は森林面積割合と有意な負の関係を示し、農地、市街地面積割合と有意な正の関係を示した。一方、河川水中懸濁態有機物濃度は河川水中 $\text{PO}_4\text{-P}$ 、 $\text{NH}_4\text{-N}$ 濃度と有意な正の関係を示したが、 $\text{NO}_3\text{-N}$ 濃度とは有意な関係を示さなかった。

3.3.3 河川水質と河口干潟底質性状の関係

RDA(C)のモデルは目的変数である河口干潟底質性状での変動を前出二つの RDA よりもよく説明した。河川水質に関する説明変数の第二軸までで河口干潟底質性状の変動の 62.2%(RDA1: 36.8%, RDA2: 25.4%)を説明した(図-3.3(c))。単回帰分析からは、河口干潟底質中の藻類由来有機物の指標である Pheo.*a* 濃度は、河川水中 $\text{PO}_4\text{-P}$ 濃度と有意な正の関係を示したが、 $\text{NH}_4\text{-N}$ および $\text{NO}_3\text{-N}$ 濃度とは有意な関係を示さなかった。河口干潟底質の Chl.*a* 濃度はいずれの栄養塩濃度とも有意な関係を示さなかった。

河口干潟底質の Pheo.*a* および Chl.*a* 濃度は、河口干潟底質の他の化学的項目($\delta^{13}\text{C}_{\text{ES}}$, $\delta^{15}\text{N}_{\text{ES}}$, C/N_{ES} , ES: Estuarine Sediment)と有意な関係を示さなかった。また、 $\delta^{13}\text{C}_{\text{ES}}$, $\delta^{15}\text{N}_{\text{ES}}$, C/N_{ES} は河川水中のそれらの項目($\delta^{13}\text{C}_{\text{RP}}$, $\delta^{15}\text{N}_{\text{RP}}$, C/N_{RP})と有意な関係を示さなかった。さらに $\delta^{13}\text{C}_{\text{ES}}$, $\delta^{15}\text{N}_{\text{ES}}$, C/N_{ES} は、 C/N_{RP} , $\delta^{13}\text{C}_{\text{RP}}$ および $\delta^{15}\text{N}_{\text{R}}$ と比較して高い値を示した(図-3.4)。特に、低い $\delta^{13}\text{C}_{\text{ES}}$ と高い C/N_{ES} を示した 4 地点 Stns.1, 3, 6, 7 は全調査地点の中でも急峻な流域の河口に位置しており、流域内の森林面積割合がいずれも 80%を超える地点であった(図-3.5)。

3.4. 考察

3.4.1 流域内における人為的土地利用が河口干潟底質の化学的性状におよぼす影響

河口干潟の底質を特徴づける要因としては、河口部の流量や流速をはじめとする物理的な要因や化学的要因などが作用していることが考えられ、これらの作用は、流域と河口干潟の関係性を不明瞭なものにする

可能性がある。しかしながら、本研究で扱った流域は、比較的小規模であるにもかかわらず、河川水質が河口干潟底質の化学的性状を有意に説明していることが示された。この結果は、比較的小規模の流域河川においても、人為的な流入物質の質的・量的変化が河口干潟の生物生息環境を変化させるうることを示しているといえる。

3種類の冗長性分析からは、河川水質と流域内土地利用面積割合の関係および河口干潟底質の化学的性状と流域内土地利用面積割合の関係は、おおむね有意に示されたものの、河川水質と河口干潟底質の化学的性状との関係に比べると弱かった。河川水質やそこでの物質輸送は、人為的な土地利用に加え流域内における浄化槽の利用、農地における有機・無機肥料の施肥方法などの影響を受けることが考えられる (Macintosh et al., 2011; Elçi and Selçuk, 2013)。特に大規模流域における水処理システムでは複数の流域からの排水の集約が考えられる。このような、流域内の土地利用形態に依存しない複数の要因は、河川水質と流域内の土地利用割合の関係性を弱めていたと考えられる。土地利用割合は水系への物質流入や人為的活動を定量的に代替する有用な指標であるが、上述のような過程を反映していない。陸域から水系への物質流入の支配的な要因が農地における施肥方法や下水放流といった点源負荷であった場合、流域内の土地被覆は河川水質および河口干潟底質の化学的性状に対して強い説明力を持たないことも考えられる。

農地や市街地など的人為的な土地利用、および河川水中栄養塩濃度、および河口干潟底質のPheo.*a*濃度との有意な正の関係は、人為的土地利用による栄養塩の流入によって河川水中もしくは沿岸域で増加した藻類が河口干潟底質に堆積したことによるものと考えられる。人為的な土地利用と正の関係を示した河川水中栄養塩濃度は河川水中のPOC濃度と正の関係を示したことからも、人為的な土地利用に関連した河川水中での一次生産の増加が推察される。一般的に、河川水中懸濁態有機物の炭素安定同位体比は河口・沿岸域のそれよりも低いことが知られている。そのため、もし、調査対象とした河口干潟においてPheo.*a*として検出さ

れる藻類由来の堆積有機物が河川由来であった場合、その炭素安定同位体比はPheo.*a*濃度が高いほどより低い値となることが推察される。一方で、藻類の起源は、河川だけでなく現地性の底生微細藻類や外海から潮汐によって輸送された藻類が河口干潟底質に堆積する可能性も考えられる。河口干潟に堆積する有機物が現地性微細藻類や外海からの藻類で優占していた場合、Pheo.*a*濃度と炭素の安定同位体比は正の関係を示すと考えられる。しかしながら今回の調査においてPheo.*a*濃度と河口干潟底質の炭素安定同位体比は有意な関係を示さなかった。これは、調査対象とした河口干潟に堆積している有機物が河川由来有機物および沿岸域由来有機物のどちらかの優占によるものではなく、様々な起源の藻類由来有機物の混合によって構成されていることを示唆している。いずれにしても、本調査結果は、河川からの栄養塩輸送が沿岸域における藻類生産の増加と干潟域への輸送を促したことを示唆する。

3.4.2. 流域内の森林が河口干潟底質性状におよぼす影響

一般的に、藻類に由来する粒状有機物のC/Nは約4~10の値を示し、維管束植物由来の場合は>20の値を示すことが知られている(e.g. Meyers, 1994)。一方、河口干潟における粒状有機物の化学的特徴はその起源のみに依存せず(e.g. Sakamaki et al. 2010)、その場での量的な変化や生物科学的な代謝過程を反映することも知られている(e.g. Caraco et al., 1998)。特に粒状有機物のC/Nは、有機物表面に付着したバクテリアによる水中からの窒素の同化に伴って低下する。今回の調査におけるC/Nと $\delta^{13}\text{C}$ および $\delta^{15}\text{N}$ の有意な負の関係はバクテリアによる代謝・同化過程にともなう化学的变化よりも、陸上植物由来の有機物の堆積を反映していたことを示唆している。特に、沖縄本島北部に位置する山地で高い森林被覆を有する4流域の河口干潟(Stns.1, 3, 6, 7)の底質については、流域内の森林からの有機物の流入が大きかったものと考えられる(Milliman and Syvitski, 1992; Sakamaki et al., 2010)。

流域内の土地被覆は粒状有機物の輸送によって河口干潟の底質性状に影響を与えていたと考えられる一方で、河川水中懸濁態有機物と河口干潟底質の化学的特徴(C/N, $\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$)はいずれも有意な関係を示さなかった。河川水中懸濁態有機物の化学的特徴は出水時と平水時で異なることが知られており(Jordan et al., 1997b; Vidon et al., 2008; Frost et al., 2009), 流域から下流域への懸濁態の輸送は、土壌の浸食などが起こる降水時に増加することが言われている(Fox and Bryan, 2000; Nowacki and Ogston, 2013; Cuvilliez et al., 2015)。今回の調査における河川水中懸濁物質のサンプルはいずれも平水時に採取したものであり、そのことで河川水中懸濁物質の流域内土地被覆および河口干潟底質のそれぞれの化学性状との関係が弱まったことも考えられる(Kendall et al., 2001)。陸域由来の粒状有機物の河口域への主な流出は出水時に発生しており、このようなイベント的な事象が、流域内における高い森林被覆と河口干潟底質の化学的特徴を関連付けていることが可能性として考えられる。それとは対照的に、流域内の農地・市街地等の人為的な土地利用と河口環境とのつながりについては、人為的土地利用割合と平水時の河川水中栄養塩濃度との関係、さらに河口干潟底質のPheo.a濃度と平水時の河川水中栄養塩濃度との関係として示された。以上のことから、河口干潟の底質性状が形成される過程は、流域内における土地利用構成によっても異なることが示唆されたといえる。

3.4.3. 河口干潟底質と流域の生物地球化学的な関係に対する流域サイズの影響

自然科学的事象の様々なパターンが調査対象とする空間スケールに依存する問題については環境科学分野において広く議論されている。本研究では比較的小規模の流域を対象としているため、得られた知見を一般的な干潟へ広く適用するには、空間スケールの影響について留意する必要がある。一般的に、流域から河口域への物質の輸送は流域サイズが大きくなるに従って増加することが言われており(Milliman and

Syvitski, 1992), 本研究で扱った流域よりも広い面積の流域では河口域への流域の影響がより強いことが予測される。本研究において河口干潟底質と流域の有意な関係がいくつかの化学的項目についてのみ限定して示されたのは流域サイズが小規模であったことも理由の一つとして考えられる。

Wiens(1989)は、生態学的パターンは空間スケールに依存し、生態系において広い空間スケールでより明確な傾向が示されると述べている。実際、本研究で扱った流域よりも大きな面積と幅広い面積の範囲を有する複数流域(7 km² ~ 8,000 km²)を対象として行われた研究では、流域面積の拡大に従って流域から輸送される粒状有機物の河口域底質に対する相対的な寄与が増加することが示されている(Sakamaki et al., 2010)。一方で、別の研究では流水中の窒素濃度は流域内での農耕地面積と正の関係にあるが、その関係性は流域サイズの拡大とともに弱くなっていることを示す報告もある(Schilling and Libra, 2000)。これは小規模の流域とくらべ、大規模の流域でより多様な環境を多く含むため、河川水質中の化学的特徴に対してより多くの因子が作用することを示唆している。このように、本研究で見いだされたような流域内土地被覆と河口干潟底質の化学的性状との有意な関係性は、より大きな流域では流域内に含まれる多様な環境によって平均化され、弱められている可能性もある。そのため、流域と河口干潟底質性状の関係について、幅広い流域規模で一般化するには、より広い面積と面積の範囲の流域を対象としたさらなる研究が必要であると考えられる。

3.5. 結論

本章では、沖縄本島において多様な土地利用形態をもつ16流域について土地利用、河口干潟底質および河口干潟に流入する河川水質調査を行い、陸域での土地利用と河口干潟の底質性状の関係について以下の知見が得られた。

- 1) 流域内における市街地，農地の土地利用割合はそれぞれ河川水の $\text{PO}_4\text{-P}$ ， $\text{NO}_3\text{-N}$ 濃度および河口干潟底質の *Pheo.a* 濃度と有意な正の関係を示した．陸域における人為的な土地利用割合の増加は河川水中栄養塩濃度を高め，干潟底質における藻類由来有機物の増加に有意に働くことがわかった．河口干潟に堆積する藻類由来有機物は，河川由来，沿岸域由来などの起源の藻類由来有機物の混合によって構成されていることが示唆された．
- 2) 流域内の森林被覆割合は河川水中栄養塩濃度と有意な負の関係を示した．また森林被覆割合は河口干潟に堆積する有機物の炭素安定同位体比と有意な負の関係を示した．これより，流域における森林被覆割合が比較的高い流域の河口干潟では陸上植物由来有機物が優占して堆積していることが示唆された．しかしながら，河川水中粒状有機物の炭素安定同位体比および C/N は河口干潟底質のそれらといずれも有意な相関は示さず，陸域からの物質輸送は本研究で行ったような平水時ではなく出水時によるものが主であると推察された．

第三章参考文献

- Ahearn, D.S., Sheibley, R.W., Dahlgren, R. a., Anderson, M., Johnson, J., Tate, K.W., 2005. Land use and land cover influence on water quality in the last free-flowing river draining the western Sierra Nevada, California. *J. Hydrol.* 313, 234–247.
doi:10.1016/j.jhydrol.2005.02.038
- Caraco, N.F., Lampman, G., Limburg, K.E., Pace, M.L., Fischer, D., 1998. Microbial assimilation of DIN in a nitrogen rich estuary: implications for food quality and isotope studies. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 167, 59–71.
- Cuvilliez, A., Lafite, R., Deloffre, J., Lemoine, M., Langlois, E., Sakho, I., 2015. River flow control on intertidal mudflat

- sedimentation in the mouth of a macrotidal estuary. *Geomorphology* 239, 174–181.
doi:10.1016/j.geomorph.2015.03.020
- Elçi, Ş., Selçuk, P., 2013. Effects of basin activities and land use on water quality trends in Tahtali Basin, Turkey. *Environ. Earth Sci.* 68, 1591–1598. doi:10.1007/s12665-012-1852-3
- Fox, D.M., Bryan, R.B., 2000. The relationship of soil loss by interrill erosion to slope gradient. *Catena* 38, 211–222.
doi:10.1016/S0341-8162(99)00072-7
- Frost, P.C., Kinsman, L.E., Johnston, C.A., Larson, J.H., 2009. Watershed discharge modulates relationships between landscape components and nutrient ratios in stream seston. *Ecology* 90, 1631–1640. doi:10.1890/08-1534.1
- Jordan, T.E., Correll, D.L., Weller, D.E., 1997. Relating nutrient discharges from watersheds to land use and streamflow variability. *Water Resour. Res.* 33, 2579. doi:10.1029/97WR02005
- Kendall, C., Silva, S.R., Kelly, V.J., 2001. Carbon and nitrogen isotopic compositions of particulate organic matter in four large river systems across the United States. *Hydrol. Process.* 15, 1301–1346. doi:10.1002/hyp.216
- Lorenzen, C., 1967. Determination of chlorophyll and pheopigments: spectrophotometric equations. *Limnol. Oceanogr.* 12, 343–346. doi:10.4319/lo.1967.12.2.0343
- Macintosh, K. a., Jordan, P., Cassidy, R., Arnscheidt, J., Ward, C., 2011. Low flow water quality in rivers; septic tank systems and high-resolution phosphorus signals. *Sci. Total Environ.* 412-413, 58–65. doi:10.1016/j.scitotenv.2011.10.012

- Meyers, P.A., 1994. Preservation of elemental and isotopic source identification of sedimentary organic matter. *Chem. Geol.* 114, 289–302. doi:10.1016/0009-2541(94)90059-0
- Milliman, J.D., Syvitski, J.P.M., 1992. Geomorphic/Tectonic Control of Sediment Discharge to the Ocean: The Importance of Small Mountainous Rivers. *J. Geol.* 100, 525–544. doi:10.1086/629606
- Nowacki, D.J., Ogston, A.S., 2013. Water and sediment transport of channel-flat systems in a mesotidal mudflat: Willapa Bay, Washington. *Cont. Shelf Res.* 60, S111–S124. doi:10.1016/j.csr.2012.07.019
- Sakamaki, T., Richardson, J.S., 2011. Biogeochemical properties of fine particulate organic matter as an indicator of local and catchment impacts on forested streams. *J. Appl. Ecol.* 48, 1462–1471. doi:10.1111/j.1365-2664.2011.02038.x
- Sakamaki, T., Shum, J.Y.T., Richardson, J.S., 2010. Watershed effects on chemical properties of sediment and primary consumption in estuarine tidal flats: Importance of watershed size and food selectivity by macrobenthos. *Ecosystems* 13, 328–337. doi:10.1007/s10021-010-9321-x
- Schilling, K.E., Libra, R.D., 2000. The relationship of nitrate concentration in streams to row crop land use in Iowa. *J. Environ. Qual.* 29, 1846–1851.
- Vidon, P., Wagner, L.E., Soyeux, E., 2008. Changes in the character of DOC in streams during storms in two Midwestern watersheds with contrasting land uses. *Biogeochemistry* 88, 257–270. doi:10.1007/s10533-008-9207-6
- Wiens, 1989. Spatial scaling in ecology 1 3, 385–397.

Young, R.G., Hury, A.D., 1999. Effects of land use on stream metabolism and organic matter turnover. *Ecol. Appl.* 9, 1359–1376.

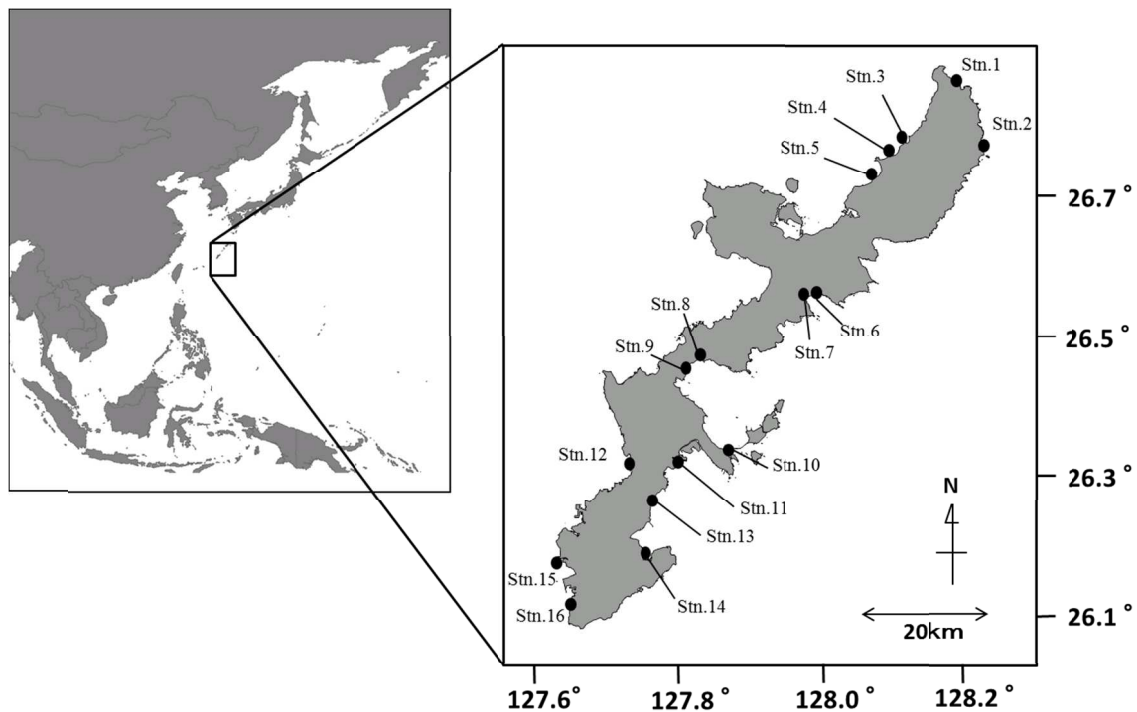
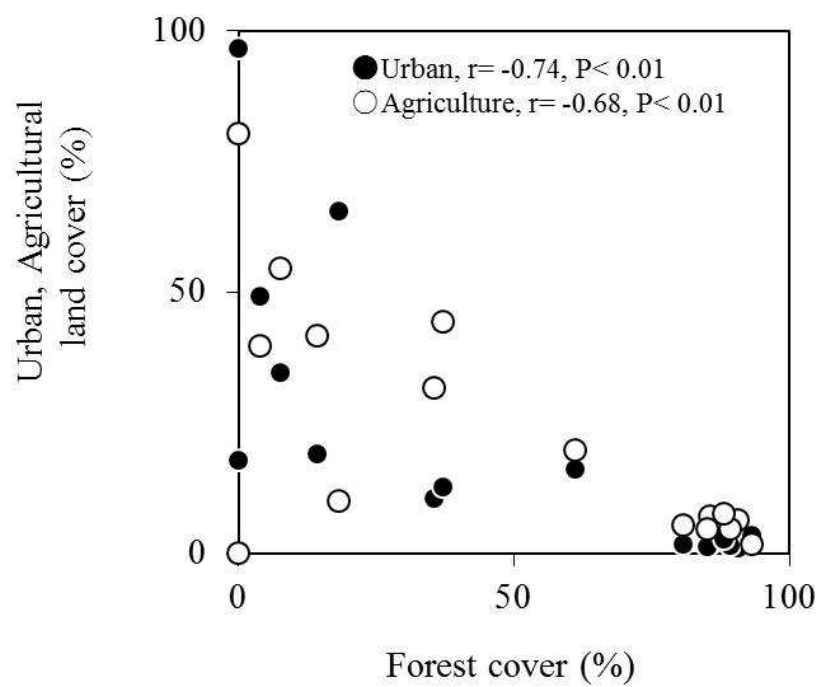


図-3. 1 本章における調査対象地点

(a)



(b)

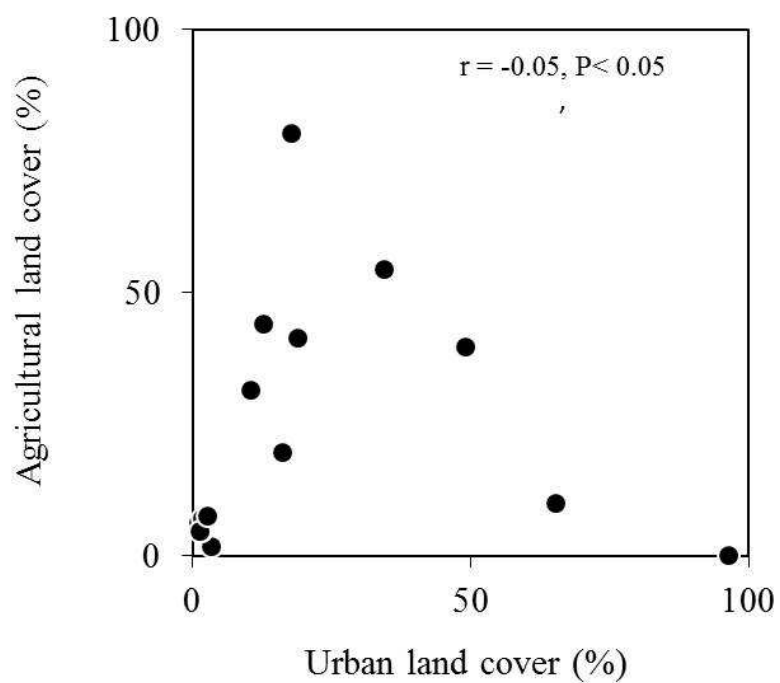


図-3. 2 各土地利用項目の面積割合の関係

表 3.1 a) 解析に用いた各種土地利用項目と冗長性分析図中での図中識別記号

	項目	図中識別記号
土地利用面積割合	森林	Forest
	農地	Agriculture
	市街地	Urban

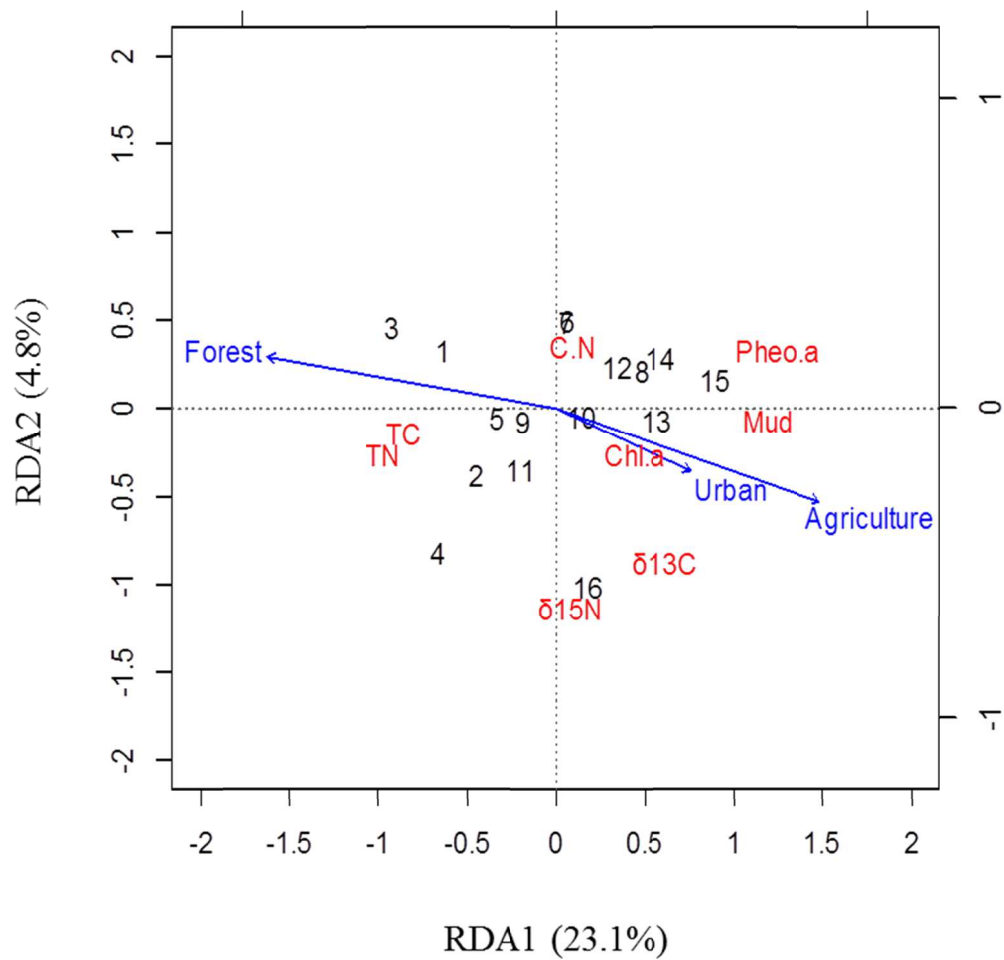
表 3.2 b) 干潟底質分析項目と冗長性分析図中での図中識別記号

	分析項目	図中識別記号
河口干潟底質	炭素安定同位体比	$\delta^{13}\text{C}$
	窒素安定同位体比	$\delta^{15}\text{N}$
	全炭素	TC
	全窒素	TN
	炭素窒素比	C.N
	クロロフィル <i>a</i>	Chl.a
	フェオフィチン <i>a</i>	Pheo.a
	含泥率	Mud

表 3.3 c) 河川水質分析項目と冗長性分析図中での図中識別記号

	分析項目	図中識別記号
河川水質	炭素安定同位体比	$\delta^{13}\text{C}$
	窒素安定同位体比	$\delta^{15}\text{N}$
	懸濁態有機炭素	POC
	懸濁態有機窒素	PON
	炭素窒素比	C.N
	リン酸態リン	PO ₄
	アンモニア態窒素	NH ₄
	硝酸態窒素	NO ₃
	亜硝酸態窒素	NO ₂
	溶存有機リン	DOP
	溶存有機窒素	DON

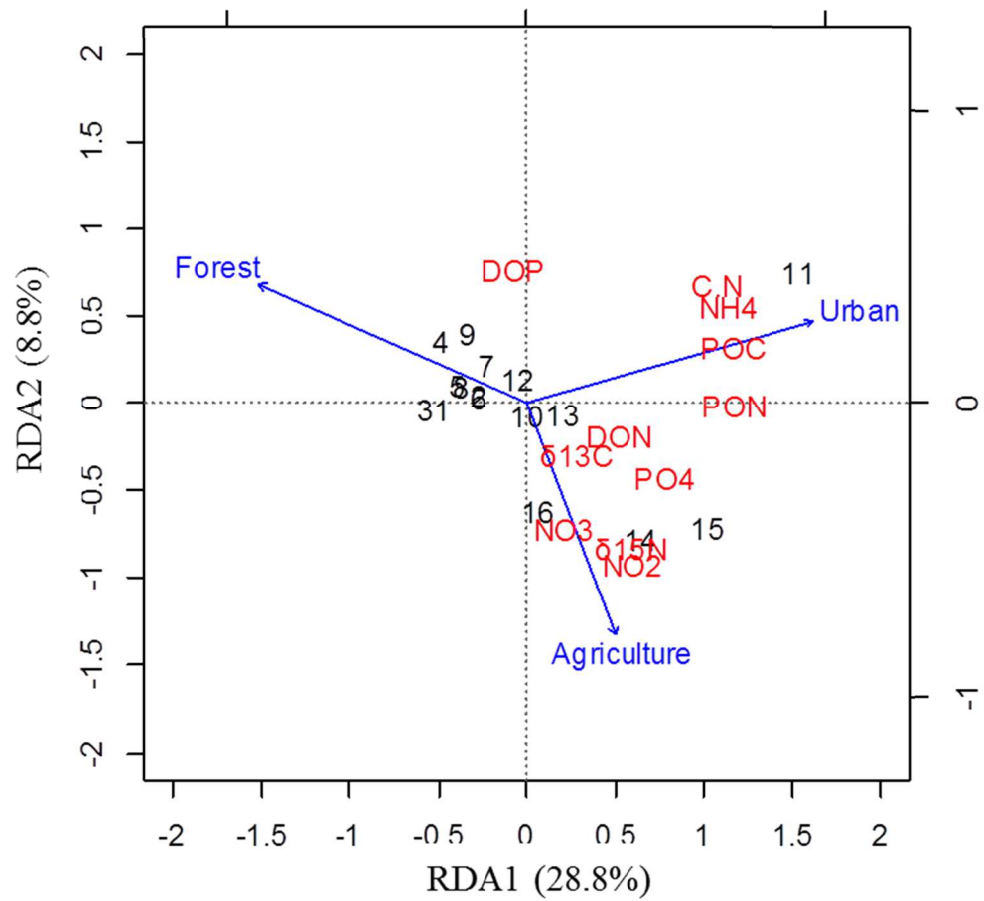
(a) RDA-(A)



青文字：説明変量 赤文字：目的変量

図-3. 3(a) 流域内土地利用面積割合(青文字)を説明変量，
河口干潟底質(赤文字)を目的変量とした冗長性分析結果
(赤文字：目的変数，青文字：説明変数，黒文字：地点名)

(b) RDA-(B)

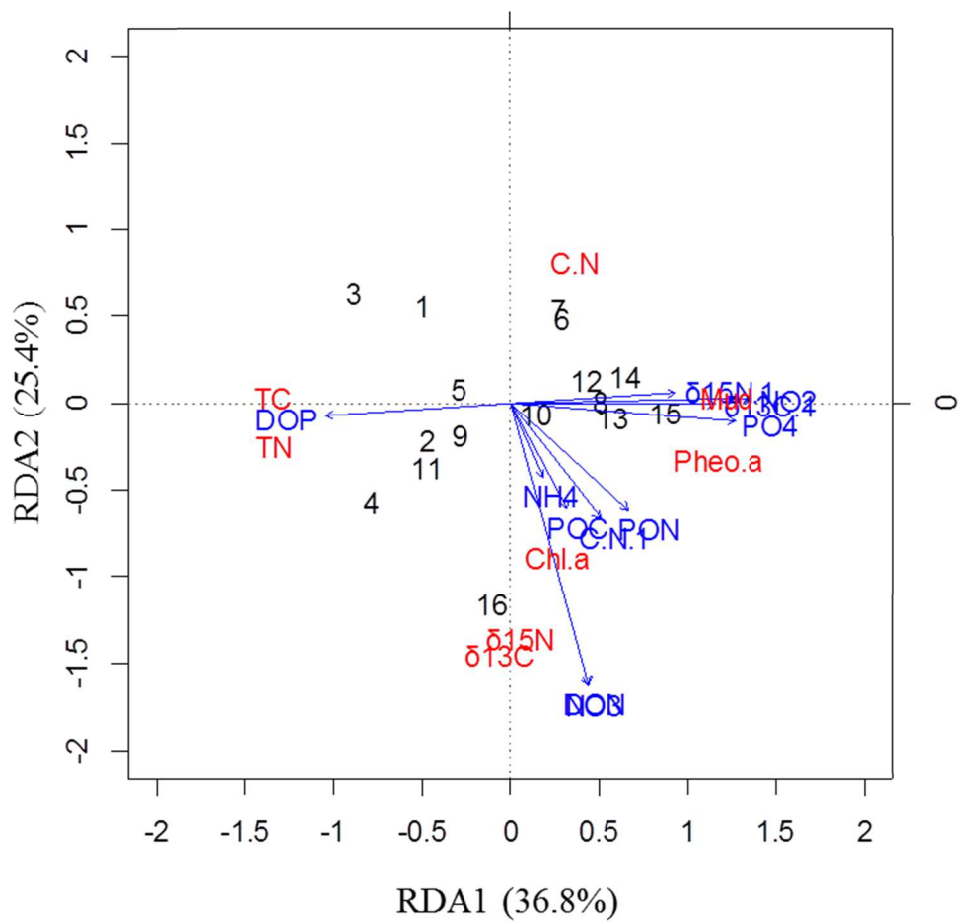


青文字：説明変量 赤文字：目的変量

図-3. 3(b) 流域内土地利用面積割合を説明変量，河川水質を目的変量とした

冗長性分析結果(赤文字：目的変数，青文字：説明変数，黒文字：地点名)

(c) RDA-(C)



青文字：説明変量 赤文字：目的変量

図-3. 3(c) 河川水質を説明変量，河口干潟底質を目的量とした冗長性分析結果
(赤文字：目的変数，青文字：説明変数，黒文字：地点名)

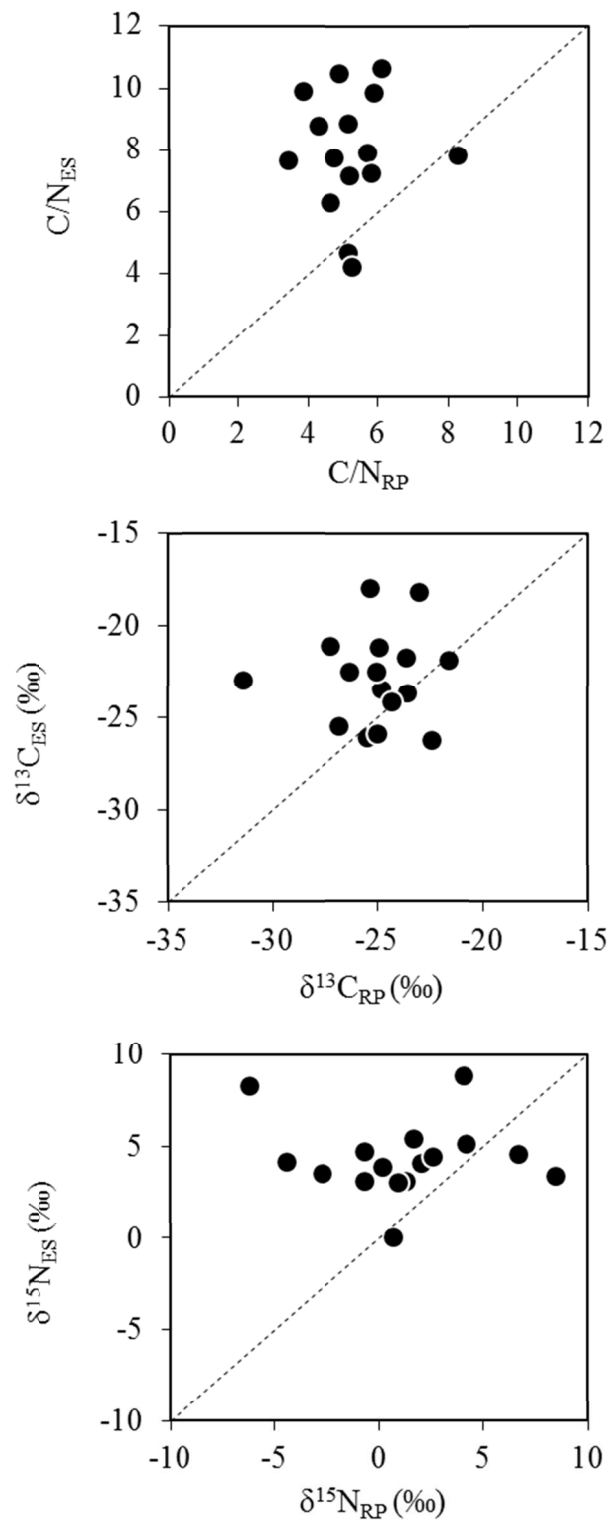


図-3.4 河川水中懸濁態有機物および河口干潟底質の
 C/N , $\delta^{13}C$, $\delta^{15}N$ の関係

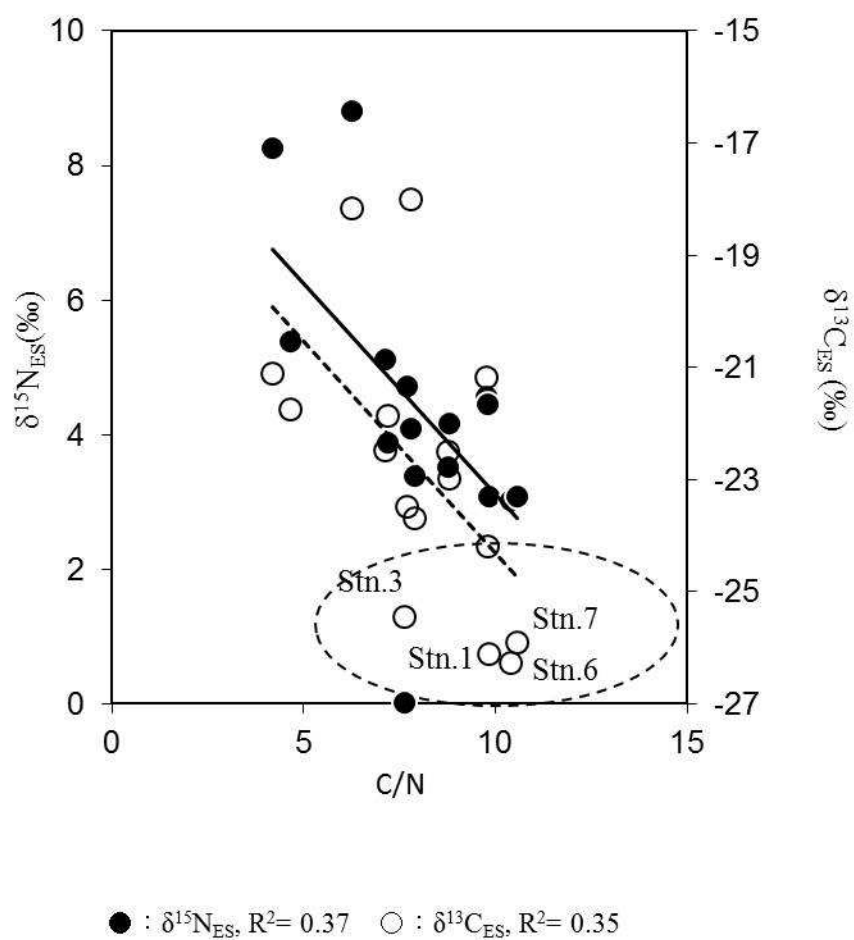


図-3.5 河口干潟底質の C/N, $\delta^{15}\text{N}$, $\delta^{13}\text{C}$ の関係
(点線に囲まれた地点は $\delta^{13}\text{C} < -25\text{‰}$ かつ森林面積割合 $> 80\%$ の地点)

表-3. 2 各土地利用割合と河川水質および河口干潟底質の化学項目との関係

Dependent variable		Explanatory variable																						
		Forest			Agriculture			Urban			Human land use			Watershed area										
											(Agriculture + Urban)													
		r^2	a	CI	r^2	a	CI	r^2	a	CI	r^2	a	CI	r^2	a	CI								
River water	PO ₄ -P	0.35	-0.54	-1.08	-	-0.09	-	-	-	0.31	0.56	0.09	-	1.91	0.32	0.51	0.09	-	1.12	-	-	-		
	NH ₄ -N	0.34	-0.54	-1.09	-	-0.07	-	-	-	0.62	0.74	0.08	-	1.12	0.33	0.53	0.04	-	1.15	-	-	-		
	NO ₃ -N	0.3	-0.34	-0.71	-	-0.14	0.41	0.54	0.20	-	1.47	-	-	-	0.28	0.35	0.12	-	0.85	-	-	-		
	δ ¹³ C _{RP}	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
	δ ¹⁵ N _{RP}	0.31	-0.54	-0.97	-	-0.17	0.26	0.5	0.07	-	0.10	0.1	0.37	0.03	-	1.51	0.27	0.52	0.18	-	0.92	-	-	
	C/N _{RP}	0.29	-0.52	-1.01	-	-0.08	-	-	-	-	0.57	0.75	0.35	-	1.06	0.36	0.58	0.13	-	1.08	0.24	-0.47	-1.01	-
Estuarine sediment	δ ¹³ C _{ES}	0.27	-0.5	-0.93	-	-0.07	-	-	-	-	-	-	-	-	0.32	0.55	0.13	-	0.98	0.33	-0.58	-1.2	-	-0.13
	δ ¹⁵ N _{ES}	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.24	-0.5	-1.16	-	-0.03
	C/N _{ES}	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Chl. <i>a</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Pheo. <i>a</i>	0.61	-0.79	-1.15	-	-0.46	0.24	0.52	0.12	-	1.28	0.39	0.73	0.26	-	1.71	0.52	0.72	0.39	-	1.13	-	-	-

第四章 沖縄本島の河口干潟における底質性状と底生生物の関係解析

4.1 緒論

河口干潟の底生生物は底質性状に強く影響を受け、各種生物はそれぞれの生息に適した底質性状の場に分布していると考えられる。河口干潟の底生生物と底質性状の関係については複数の種の底生生物で比較が行われている(例えば Thrush et al., 2003; Hyland et al., 2005)。ところが、河口干潟の底質性状は含泥率、粒度組成といった物理的な要素に加え、有機物の生産や堆積、分解などに伴う化学的特性を有し、流速などの外的要因や底質における生物生息活動が複雑に作用し形成されている。さらに、干潟における底生生物の群集構造は、底質性状だけでなく生物間での相互作用が反映される。そのため、生物の出現やその生息密度について底質性状との線形的な関係性は想定されにくく、干潟の底生生物の生息に及ぼす底質性状の影響についてはさらなる理解が必要である。

干潟の底生生物は種による分類のほかに、生息形態や摂餌形態といった生態学的な機能による分類が可能である。干潟底生生物の生息や摂餌は底質性状と関連していることから、各機能群に適した底質性状の存在が考えられる。そのため、底生生物を機能により分類し、底質性状との比較を行うことで群集としての特徴と底質性状の関係性を把握できる可能性がある。

そこで本研究では、沖縄本島 16 河口干潟の底質調査および底生生物相調査に基づき、各生物機能群の生物密度と底質性状の関係について相対的な比較を行い、底質性状による生物群集構造の説明を試みた。

4.2 調査・分析方法

4.2.1. 調査方法

2012 年 9 月~10 月に、沖縄本島において実施した底質ならびにベントス調査データを用いて解析を行った。同調査では、前章に述べた 2010

年実施調査と同じ 16 の河口干潟において、各干潟内の 2 地点からベントスおよび底質の採取を行った。ただし、うち 1 地点については調査時に干出が不十分でベントス採取を行うことが困難であったため除外し、計 16 河口干潟 31 地点を対象として解析を行った。

ベントス調査は表在ベントス、内在ベントスについて行った。表在ベントスは面積 $0.3\text{m} \times 0.3\text{m}$ の 4 区域を各地点で設け、各区域の表層 1cm の底質をすべて 1mm 目合いの篩で濾し、ベントスを採取した。内在ベントスは $0.3\text{m} \times 1.0\text{m} \times 0.2\text{m}$ の範囲で 8 分間、シャベル用いて採泥を行い、目視で確認できたベントスをすべて採取した。採取後のベントスはクーラーボックスで実験室に持ち帰り、同定および種ごとの個体数・湿重量の測定を行って 1m^2 当たり密度および現存量を算出した。種の同定が困難なベントスは可能な範囲で低次の分類群までの同定を行った。体に切断、損傷が見られる場合は原則として頭部の数を個体数とした。

各生物の生息様式に基づき、生物群集は科ごとに①生息場所（内在性、表在性）、②生息形態（営巣性、潜行性、表棲性、下在性、付着性）、③食性（肉食性、植物食性、雑食性、デトリタス食性）、④摂餌形態（堆積物食、懸濁物食、捕食、堆積物捕食、堆積物懸濁物食、剥取食）に分類した(表 4.1.)。

4.2.2. データ解析

河口干潟の底質は、 $63\mu\text{m}$ 以下粒子中炭素量と窒素量についての相関分析、および含泥率を説明変量、 $63\mu\text{m}$ 以下粒子中炭素量を目的変量とした回帰分析を行った。さらに、含泥率 5%以下、5%~15%、15%以上に分類し、それぞれの含泥率の底質について $63\mu\text{m}$ 以下粒子中炭素量と窒素量の関係を比較した。安定同位体比についても -24‰ 以下、 -24‰ ~ -21‰ 、 -21‰ 以上に分類し、それぞれの炭素安定同位体比の底質について含泥率と $63\mu\text{m}$ 以下粒子中炭素量との関係を比較した。

ベントス群集組成のデータを用いて、各地点について以下の式から Shannon-Weaver の生物多様性指数 H' を算出した。

$$H' = - \sum p_i \ln p_i$$

$$p_i = (\text{種 } i \text{ の個体数}) / (\text{群集の全個体数})$$

各機能群の出現と底質性状の相対的な関係を比較するため、機能群生物密度を目的変量、底質性状を説明変量とした冗長性分析を行った。生物多様性の高い地点の底質性状を明らかにするため、各地点の Shannon-Weaver の生物多様性指数 H' を目的変量、各底質項目を説明変量とした回帰分析を行った。底質データは、前章の 2010 年の調査で得られたデータを使用した。

4.3. 結果

4.3.1. 干潟底質性状の各分析項目間の関係

含泥率は底質の 63 μm 以下粒子中炭素量は、含泥率の高い地点で低かった ($p=0.007$, $r^2=0.23$) (表 4.2, 図 4.1)。15%以上の高い含泥率を示した地点の 63 μm 以下粒子中炭素量は約 40mg/g 以下で、炭素量が 40mg/g を超える地点は含泥率が 16%以下の地点のみであった。Chl.*a* と含泥率は相関分析では有意な関係を示さなかったものの、低含泥率の地点では高い Chl.*a* 濃度を示す地点が存在した(図 4.2)。63 μm 以下粒子中炭素量および窒素量の関係は有意な正の関係を示し ($p<0.0001$, $r^2=0.85$)、炭素量 40mg/g を境に炭素量と窒素量の関係が大きくにばらつく傾向がみられた(図 4.3)。含泥率と炭素量は、C/N および炭素安定同位体比のいずれとも有意な関係を示さなかった。

4.3.2. 底生生物機能群および種多様性指数と底質性状の関係

冗長性分析では、説明変量である干潟底質性状が、第一軸で 12.7%、第二軸で 11.7%、計 24.4%、目的変量である各機能の生物密度の地点間変動を説明した(図 4.4)。この冗長性分析では、各機能分類群は 3 グルー

プに分類された。石の上(表棲性)や石の下(下在性)で活動する生物や、植物食や剥取食者は 63 μ m 以下粒子中炭素量(TC)および 63 μ m 以下粒子中窒素量(TN)が高い地点で生物密度が高かった(グループ A)。これらと反対に、63 μ m 以下粒子中の炭素(TC)および窒素の含有量(TN)が低い地点で生物密度が高かったのは底質中で活動する内在性の生物(P 内在性)、巣穴を形成する生物(H 営巣性)、食性による機能分類群では肉食性の生物(F 肉食)、捕食(I 捕食)、堆積物・捕食(I 堆積物捕食)を行う生物が多く出現した(グループ B)。これらのグループ B が出現した地点では、同時に含泥率および Pheo.a(Pheo.a)、窒素安定同位体比が高かった。さらに、上述の底質性状の指標とは関係性を示さず、一方で C/N の高い底質には、地表で活動する生物(P 表在性)、ヤドカリやカワニナなど巣穴を持たず地表で生活する生物(H 表棲性 1)、堆積物食を行う生物(I 堆積物食)の密度が高かった(グループ C)。

相関分析においては、生物多様性指数はいずれの機能分類群の生物密度とも有意な関係を示さなかった($p>0.05$)。生物多様性指数 H'は 63 μ m 以下粒子中の炭素・窒素安定同位体比、および窒素量と有意な負の関係を示し、C/N と有意な正の関係を示した(表 4.3, 図 4.5a)~d)。

4.4. 考察

4.4.1. 含泥率および有機物量の異なる地点における底質形成の化学的特徴

一般的に、含泥率の高い場では有機物含有量が高いことが知られているが、本研究で測定した 63 μ m 以下粒子の炭素量はむしろ高い含泥率の場で低い値を示す傾向にあった。底質の有機物含有量は洗い流しや巻き上げによる底質粒子の交換、また微生物の分解による影響を受けるが、砂泥および泥質は砂質とくらべ高い粘着性を有し、底質中粒子の滞留時間が比較的長い(宮平・坂巻, 2011)。また、底質の非粘着性から粘着性への移行は含泥率 3%から 15%の間で発生することが言われている(Mitchener and Torfs, 1996)。本研究において 5%以上の含泥率の地点

では 40mg/g を下回る比較的低い炭素量を示す傾向にあり，それらの地点では，炭素量が 40mg/g を超える地点とくらべて炭素量と窒素量との関係が一定となり，C/N が高い傾向を示した(Mud<16% : 8.35 ± 1.67 ，Mud<5% : 6.82 ± 2.48)．特に，含泥率の比較的高い地点(含泥率>16%)は全て 63 μ m 以下粒子の炭素量が 40mg/g を下回っていたことから，高含泥率の地点における 63 μ m 以下粒子は底質中に長期間補足され，微生物による分解作用を十分受けたものが堆積していると推察される．さらに，含泥率は炭素安定同位体比と有意な関係を示さず，16%以上の含泥率の地点で示された比較的高い C/N は，難分解である陸上植物由来有機物の残留によるものではなく微生物による有機物分解によるものであることが推察される．一方，含泥率の低い地点では 63 μ m 以下粒子中炭素量の高い地点が多く存在した．砂質では泥質と比較して深部まで光が浸透するために光合成効率がよく(Billerbeck et al., 2007)，藻類の一次生産やそれに伴う微生物などの有機物生産が活発に行われていると考えられる．また，幸福ら(2005)は宮城県蒲生干潟内において底質性状の異なる地点での連続観測を行い，有機物の生産フラックスは砂質エリアで最大となることを示した．本研究における低含泥率地点では底生微生物の活発な生産，さらには周辺からの移入に伴う新鮮な有機物が堆積していたと推察される．

4.4.2. 河口干潟底生生物の機能群生物密度および種多様性に及ぼす底質性状の影響

グループ B の機能群は冗長性分析および相関分析の結果，含泥率と内在性生物密度および営巣性生物の生物密度がそれぞれ正の関係を示したことから，微細粒子が比較的多く存在する底質は高い粘着性が巣穴形成に適していたと考えられる．一方，藻類食，剥取食者の密度が高い傾向を示したグループ A は，グループ B の底質性状と対照的に含泥率が低く 63 μ m 以下粒子中炭素量の多い地点であり，これらの地点では砂質に

おける活発な有機物生産が植物食と剥取食者の生物密度を高めていた理由のひとつと推察される。

生物多様性指数はいずれの機能群の生物密度とも有意な関係を示さず、いずれかの機能群が突出する地点では種多様性が低いと考えられた。一方、生物種多様性指数は C/N と正の関係、炭素安定同位体比と負の関係を示し、陸上植物由来有機物の流入が比較的多い地点で生物多様性指数が高くなることが示された。さらに、生物多様性指数は炭素量や含泥率とは有意な関係を示さなかったことから、底質有機粒子の有機物量や、含泥率などの物理的な粒度組成よりも、藻類等の他の有機物に加え陸上植物由来有機物が混合する底質が生物多様性を高めていたことが示唆された。質的に多様な有機物の堆積は、多様な餌資源要求の生物の共存を可能にしていたと推察される。

4.5 結論

本章では沖縄本島内 16 河口干潟において、含泥率が比較的高い地点に堆積している 63 μm 以下の微細な有機物は、微生物分解によって質的に変化した有機物であることが示唆された。また、河口干潟に生息する底生生物と底質性状の関係については、いくつかの機能分類群が底質性状によって説明できることが明らかとなった。一方、生物多様性は各機能分類の生物密度が突出する地点や、含泥率、63 μm 以下微細粒子中有機物量が相対的に高い、もしくは低い地点よりも、陸域由来有機物が堆積する地点で高いことが示唆された。

第四章参考文献

Billerbeck, M., Røy, H., Bosselmann, K., Huettel, M., 2007. Benthic photosynthesis in submerged Wadden Sea intertidal flats. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* 71, 704–716. doi:10.1016/j.ecss.2006.09.019

- Hyland, J., Balthis, L., Karakassis, I., Magni, P., Petrov, A., Shine, J., Vestergaard, O., Warwick, R., 2005. Organic carbon content of sediments as an indicator of stress in the marine benthos. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* doi:10.3354/meps295091
- Mitchener, H., Torfs, H., 1996. Erosion of mud/sand mixtures. *Coast. Eng.* 29, 1–25. doi:10.1016/S0378-3839(96)00002-6
- Thrush, S., Hewitt, J., Norkko, A., Nicholls, P., Funnell, G., Ellis, J., 2003. Habitat change in estuaries: predicting broad-scale responses of intertidal macrofauna to sediment mud content. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 263, 101–112. doi:10.3354/meps263101
- 宮平讓, 坂巻隆史, 2011. 水理観測と同位体分析に基づく干潟底質細粒画分の動態解析. *土木学会論文集D(環境)* 67, 69–77.
- 幸福智, 坂巻隆史, 野村宗弘, 市村康, 西村修, 2005. 蒲生干潟における干潟堆積物-直上水間の懸濁態有機物の輸送特性. *環境工学研究論文集* 42, 305–314. doi:10.1017/CBO9781107415324.004

表-4. 1 各機能分類

図中識別記号	機能種別	機能分類	補足説明
P	生息場所	内在性	底質内に生息
		表在性	底質表層に生息
H	生息形態	営巣性	巣穴を形成
		潜行性	巣穴を形成せず、底質に潜行し生息
		表棲性 1	巣穴を形成せず地表で生活
		表棲性 2	岩など粗い粒子上で生活
		下在世	巣穴を形成せず、石や岩の下に生息
		付着性	貝などの表面に付着し生息
F	食性	肉食	
		植物食	
		雑食	
		デトリタス食	
I	摂餌形態	堆積物食	腐肉を含む堆積物
		懸濁物食	
		捕食	
		堆積物捕食	
		堆積物食懸濁物食	
		剥取食	

表-4.2 底質性状の相関分析結果(NS: 有意な関係なし)

	$\delta^{13}\text{C}$		$\delta^{15}\text{N}$		C/N		TN		TC		Chl. <i>a</i>		Pheo. <i>a</i>	
	r	p	r	p	r	p	r	p	r	p	r	p	r	p
$\delta^{15}\text{N}$	0.61	0.0003 **	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
C/N	-0.57	0.001 **	-0.53	0.0027 *	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
TN	NS		0.38	0.0385 *	-0.63	0.0002 *	-	-	-	-	-	-	-	-
TC	NS		NS		NS		0.92	<0.0001 ***	-	-	-	-	-	-
Chl. <i>a</i>	NS		NS		NS		NS		NS		-	-	-	-
Pheo. <i>a</i>	NS		NS		NS		-0.47	0.0089 **	0.44	0.0161 *	0.40	0.0266 *	-	-
Mud	NS		NS		NS		-0.46	0.0113 *	0.48	0.0074 *	NS		0.57	0.001 **

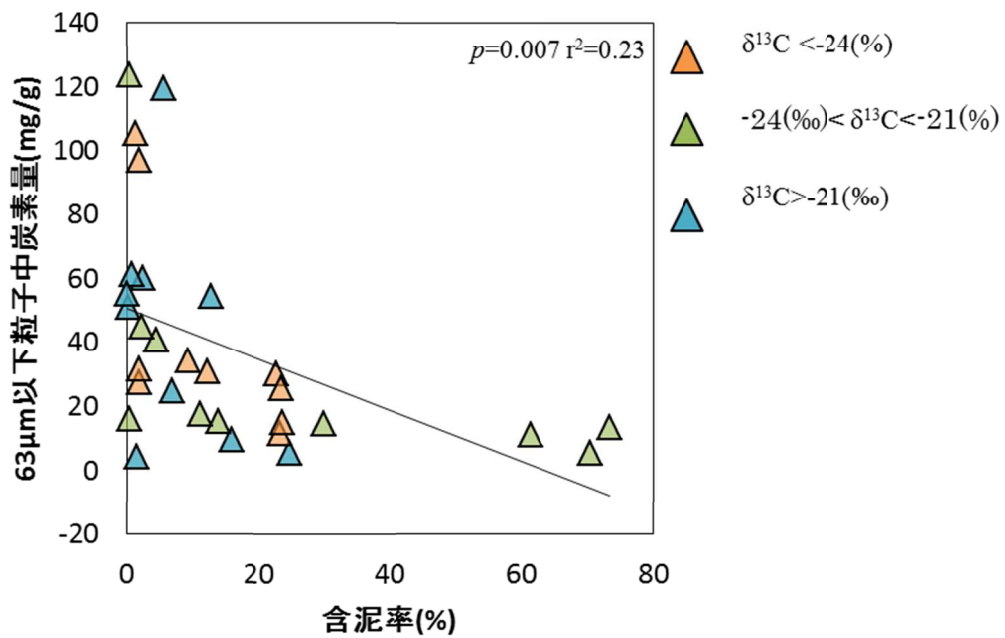


図-4.1 含泥率と 63μm 以下粒子中炭素量の関係

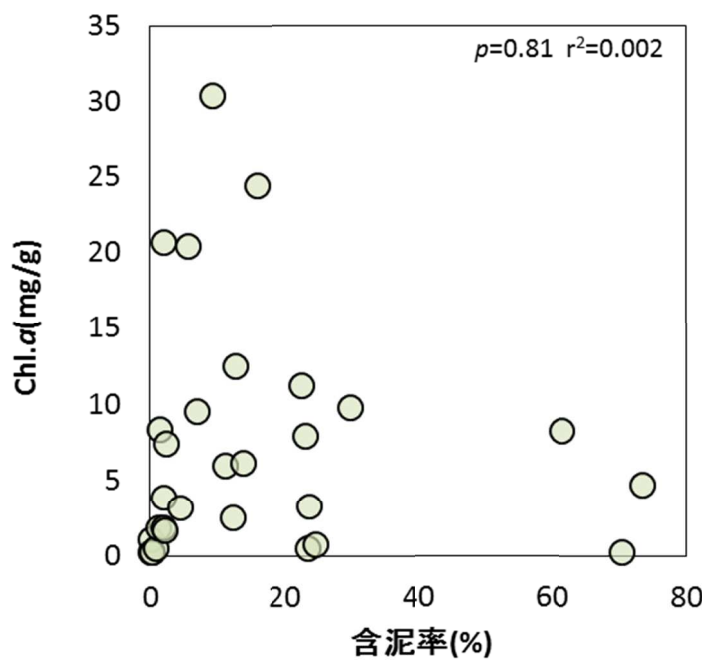


図-4.2 含泥率と底質中 Chl. a 濃度の関係

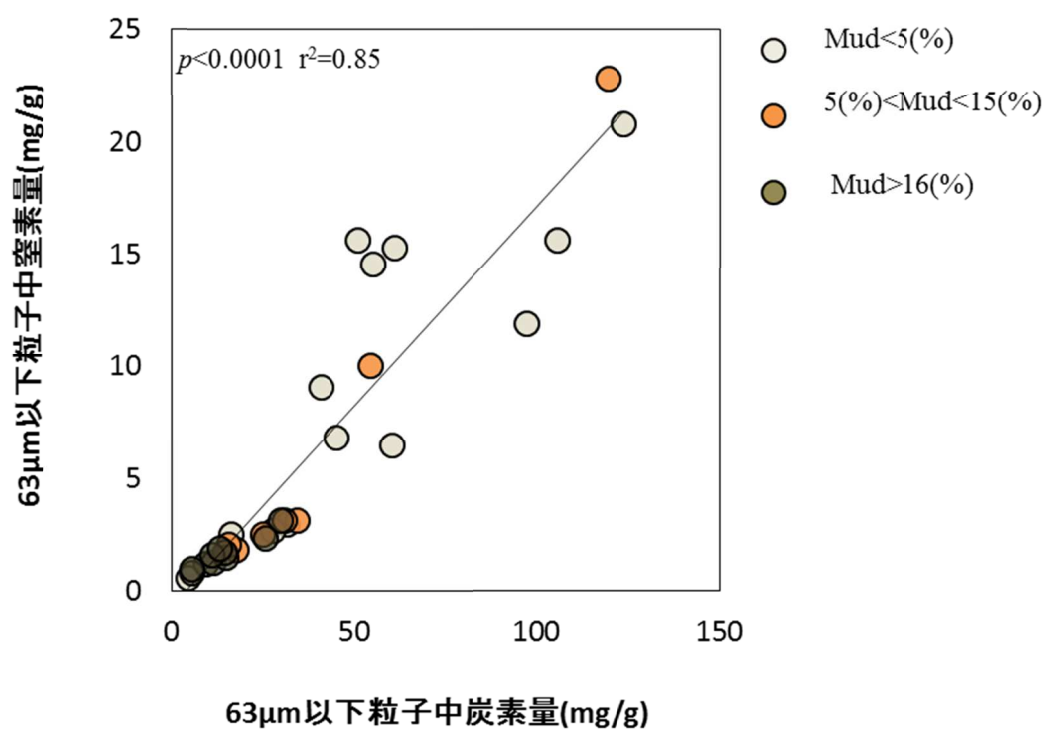
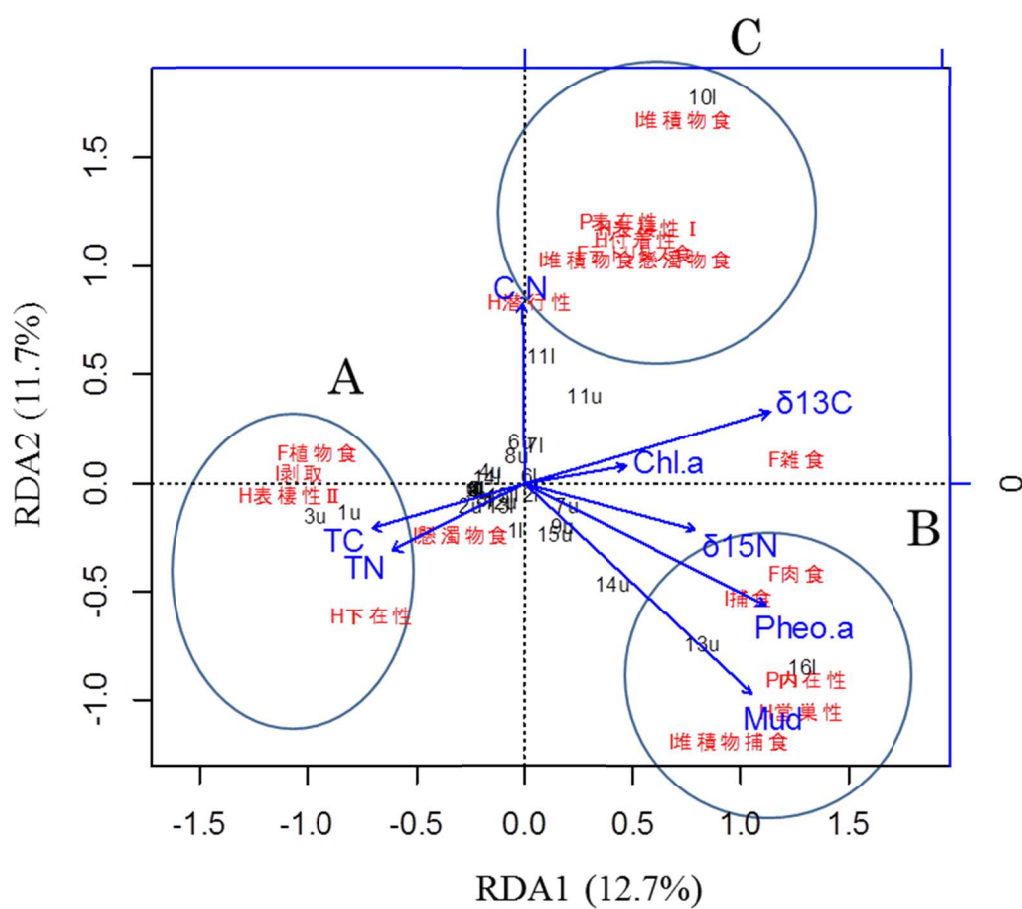


図-4. 3 63μm 以下粒子中炭素量と窒素量の関係



青文字：説明変量 赤文字：目的変量

図-4.4 各機能分類群の生物密度を目的変量，底質性状を説明変量とした冗長性分析(赤文字：目的変量，青文字：説明変量，黒文字：地点名，図中底質記号については第三章表 3.2b)参照，生物記号については本章表 4.1 参照)

表-4. 3底質性状と生物種多様性指数H'の回帰分析結果分析結果

(目的変量：生物種多様性指数H'，説明変量：底質性状，NS: 有意な関係なし)

	r^2	p	
$\delta^{13}\text{C}$	0.18	0.02	*
$\delta^{15}\text{N}$	0.23	0.008	*
C/N	0.36	0.001	*
TN	0.17	0.022	*
TC		NS	
Chl.a		NS	
Pheo.a		NS	
含泥率		NS	

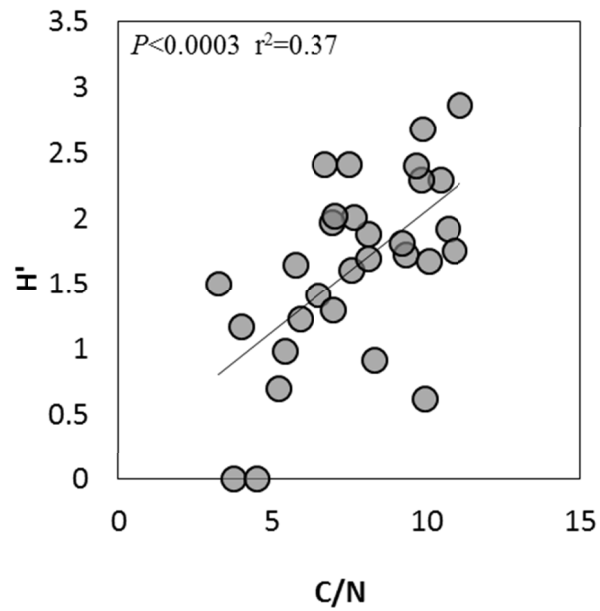


図-4. 5 a)底質の炭素・窒素比(C/N)と生物多様性指数(H')の関係

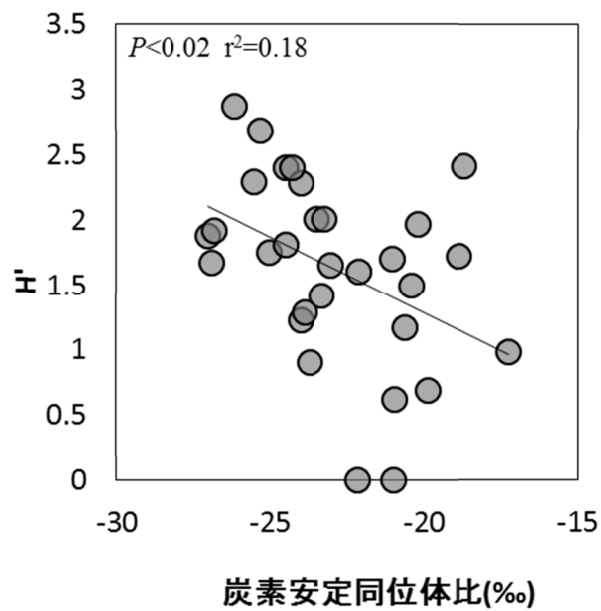


図-4. 5b)底質の炭素安定同位体比と生物多様性指数(H')の関係

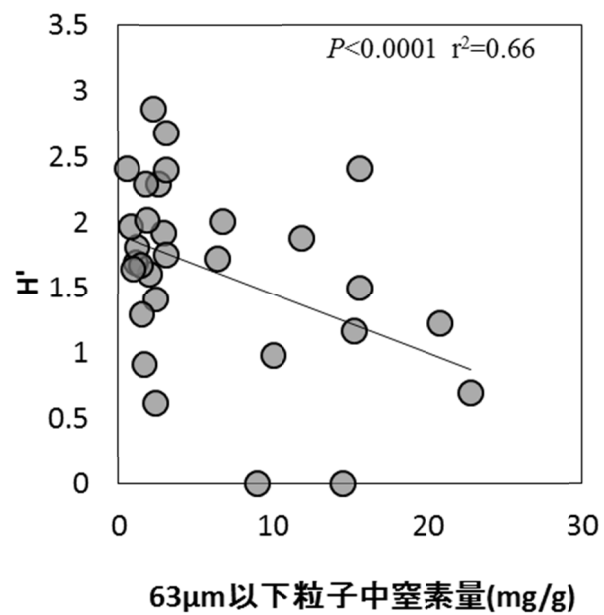


図-4. 5 c) $63\mu\text{m}$ 以下粒子中窒素量と生物多様性指数(H')の関係

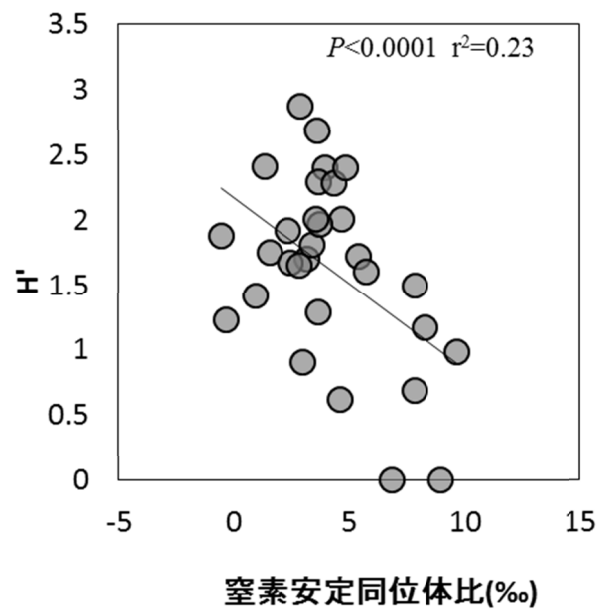


図-4. 5 d) 底質の窒素安定同位体比と生物多様性指数(H')の関係

第五章 河口干潟堆積物食者に及ぼす有機物の質・量の影響に関する実験的検討

5.1. 緒論

河口干潟の底生生物に対し、有機物は餌源として重要な存在である反面、その過剰な蓄積は底質を嫌気化し、硫化水素の発生によって生物の呼吸を阻害することが指摘されている。特に生物にとって主要な餌源である藻類由来有機物は生物の成長に律速となりがちな N を多く含み、生物の成長に対する寄与は大きいことが考えられる。しかしながらその性質上、易分解であるため酸素消費が速く底質悪化に対する寄与が大きいことが考えられる。一方、陸上植物由来有機物は難分解であり、酸素消費の観点からは底質への影響は少ないことが予測される。そのため、陸上植物の供給による底質性状の悪化は藻類由来有機物のそれとくらべ緩やかであると考えられる。

干潟底生生物による陸上植物由来有機物の利用については濾過摂食を行う二枚貝ヤマトシジミ (*Corbicula japonica*) に対して、藻類のみの摂餌で不足する炭素の供給源としての役割が示唆されている(片山 2014)。また、現場調査からカワゴカイ属 *Hediste* sp. による陸上植物由来有機物の同化が示唆されている(Shin et al. 2012)。しかしながら、陸上植物由来有機物が底生生物の成長に対しどの程度の寄与があり、またその多量の堆積が底質に及ぼす影響については不明である。

Hediste sp. は底質に堆積する有機物を摂食する堆積物食者で、底質に巣穴を形成する埋在性生物であり、底質中の質・量にも強く影響を受けていると考えられる。また全国的にも広く分布している *Hediste* sp. をはじめ、干潟に生息する多毛類は現存量が多く(佐藤, 2004, 2006)、掘削行動などを通して干潟生態系における物質輸送や浄化作用などの点においても重要な役割を果たしていると考えられる。

本章では、陸上植物由来有機物および藻類由来有機物の底生生物の生息・成長への役割を明らかにするため、堆積物食者である *Hediste* sp. を用いてそれぞれの添加有機物量を変化させる室内飼育実験を行った。

5.2 実験方法

底生生物 *Hediste* sp. に対し藻類由来有機物および陸上植物由来有機物の質の異なる二種の有機物を給餌する室内飼育実験を約 2 ヶ月間（2014 年 2 月 5 日～4 月 9 日）行った．藻類由来有機物(藻類系)，陸上植物由来有機物(陸上植物系)の両系において，以下 b) に記述する方法で推定された，*Hediste* sp. が一日に必要なとする炭素量を十分満たす餌量を基準とし，一回に与える餌量としてそれぞれ 4 段階の給餌有機物量を設けた．低濃度から順に Lv.1, Lv.2, Lv.3, Lv.4, それぞれで基準給餌有機物量の 1/5 倍，2.5 倍，5 倍を与えた(表-5.1)．藻類系，陸上植物系の各給餌量 Lv. について，それぞれ 3 系ずつ設定し，さらに餌を添加しないコントロール系(Control)3 系の合計 27 系で実験を行った．

a) 対象生物

実験には，2014 年 11 月と 2015 年 1 月に七北川河口蒲生干潟で採取した多毛類 *Hediste* sp の個体を用いた．採集後は，実験開始まで強熱処理済み(550℃，1 時間)ケイ砂を敷いた水槽内で餌は与えず飼育した．実験には湿重量 4~34mg までの若齢とみられる個体を用いた．

b) 餌条件

餌には海産性珪藻 *Chaetoceros calcitrans* (マリンテック株式会社，餌料用珪藻サンカルチャー) および広瀬川水系青下川より採取した落葉リターを用いた．海産珪藻 *C. calcitrans* は 50ml ファルコンに分注し，2500rpm で 20 分間遠心分離を行い，上澄みを取り除くことで培養液を除去した．その後砂ろ過海水で 50ml 目盛りまでメスアップし，攪拌後冷凍保存したものを用いた．リターは 2014 年 10 月～11 月にかけて河道直上 1m 程度に設置したリタートラップに集まったリターを風乾し，500rpm で 10 分間粉碎後，ミリ Q 水を用いて初期溶脱を行い再び風乾した．リタートラップのリターはイタヤカエデ(*Acer pictum sub sp.*)が多くを占め，他にケヤキ(*Zelkova serrata*)，ミズナラ(*Quercus crispula*)等が含まれていた．

給餌する餌量は、以下の *Hediste* sp.の呼吸実験をもとに、湿重量 1mg の *Hediste* sp.が 1 日あたりの代謝に必要な炭素量を推定し決定した。呼吸実験では、*Hediste* sp.を海水で満たした蓋付三角フラスコに入れ、コントロール系として設けた海水のみを満たした蓋付三角フラスコとともに暗条件下で一週間の飼育を行った。実験開始から定期的に酸素濃度を測定し、単位湿重量 *Hediste* sp.の一日当たり酸素消費速度を $0.05\text{g-O}_2/\text{g-wet-weight/day}$ と求めた。そして、呼吸による酸素消費量あたりの炭素消費量を、二酸化炭素の酸素と炭素の質量比(12:32)より算出した($0.05 \times 12/32 = 0.02\text{gC/g}$)。さらに、マクロベントスが必要とする摂餌量は、代謝に必要な炭素比を(生産+排せつ+呼吸):呼吸=1:0.3 とし、上述の結果に基づいて 0.06g-C/g/day と求めた。そして、これを満たす基準となる給餌量を *C.calsitrans* およびリターそれぞれについて決定した。

c) 実験装置

直径 30cm 深さ 30cm のコック付ポリバケツに直径 8cm 深さ 15cm のプラスチックコアを入れ、プラスチックコア内部およびその隙間に強熱処理済みケイ砂を 5cm まで充填した(図-5.1)。コアはポリバケツ壁面に沿って 6 コア、中央に 1 コアを配置した。中央のコアにはケイ砂を入れず、エアポンプを設置した。中央コアにはゴム管を取り付けポリバケツのコックに連結させ、水交換の際の流出は中央コアを通り排水されるようにした。各コアは壁面に無数の微細な穴をあけ、海水を入れる際は中央コアに海水を入れ、コア壁面の穴から海水がケイ砂へ徐々に浸透するようにした。

各バケツ内の壁面寄りの 5 コアに *Hediste* sp.を 3 個体ずつ、計 15 匹を飼育した。

d) 給餌、水交換

給餌および水交換は一週間ごとに行った。各コア内に規定量の餌を入れ、バケツ下部のコックを開き中央コアを通してバケツ内の海水を排水

することでケイ砂表層部に餌を堆積・ろ過させた．その後再び海水を満たし，各回の水交換および給餌の作業を完了させた．

e) サンプルング

当初は時系列での測定するため，定期的に 1 コアずつのサンプルングを予定していたが，実験開始後 7 日目，一回目のサンプルングにおいてコア間での *Hediste* sp. の移動が確認されたため，それ以降の定期的なサンプルングは行わず，実験終了時に残りの *Hediste* sp. のサンプルングを行った．*Hediste* sp. の湿重量等の比較は実験条件が同じ 3 つのバケツを 1 実験系とし，有機物種間および給餌量間での比較とした．実験開始から 63 日目，3 日間で底質および *Hediste* sp. を回収し，実験終了とした．生残率の算出は実験開始時の個体数 15 匹から一回目のサンプルングで回収された個体数を引いた初期個体数として計算した．個体数は頭部のあるものを 1 個体として計上した．回収されたすべての *Hediste* sp. について個体ごとに湿重量を計量し，-30℃以下で冷凍保管し化学分析(炭素・窒素元素分析，脂肪酸分析，脂肪酸安定同位体比分析)に供した．採取した底質は，一部は-30℃以下で冷凍保管し化学分析(炭素・窒素元素分析，脂肪酸分析)に供し，さらにその他一部を 1℃以下で冷蔵し硫化水素濃度および酸素消費速度の測定に供した．

5.3. 分析・測定方法

5.3.1. 底質酸素消費速度

実験終了後採取した底質について酸素消費実験を行った．ふた付き三角フラスコに底質を入れ，砂ろ過海水を満たして，20℃暗条件のもと振とう機で攪拌した．溶存酸素濃度の測定は，実験開始から 1.5, 4.5, 11, 23, 29, 35, 47 時間後，さらにそれ以降は 24 時間ごとに行った．酸素消費実験は溶存酸素濃度が，4mg/ml になったサンプルから順次停止し，最大で 6 日目まで行った．

5.3.2. 硫化水素

4月14日~5月1日にかけて、硫化水素の測定を行った(ガステック, 検知管 L201). 底質約 1g をビーカーに計量して採り, ミリ Q 水で懸濁させガス発生管内において硫酸と反応させ測定した.

5.3.3. 脂肪酸分析

脂肪酸は Abdulkadir and Tsuchiya (2008)の One-step method に従って抽出・メチルエステル化を行った. 底質, *Hediste* sp.ともに凍結乾燥を行い遠沈管に測りとり, 内部標準物質 1ml, BF₃ メタノール 2ml, ヘキサン 4ml を加えてウォーターバスで 2 時間煮沸することで脂肪酸抽出とメチルエステル化を行った. その後, ミリ Q 水 2ml を加えて攪拌し遠心分離 (2500rpm, 3 分間) によって水層とヘキサン層に分離した. そして, 脂肪酸メチルエステルを含むヘキサン層を回収し試料とした. 内部標準物質にはトリコサン酸(C23:0, 東京化成(株))を用いた.

脂肪酸組成分析は水素塩イオン化検出器付きガスクロマトグラフ (GC-2014, 島津製作所(株))を用いて行った. 充填カラムにはキャピラリーカラム(Select FAME, 100m×0.25mmID, 0.20mm, Agilent 社製)を用い, キャリアガスにはヘリウムを用いた. 各脂肪酸の標準物質にはスペルコ社 spelco37, bacteria FA, PUFA-3 を用い, リテンションタイムから各脂肪酸の同定および各脂肪酸含有量, 組成比の算出を行った. 既往文献より, 検出された複数の脂肪酸については, 細菌(i-15:0, a-15:0, i-16:0, i-17:0, 18:1 ω 7), 緑藻等(18:2 ω 6t, 18:2 ω 6c, 18:3 ω 6, 18:3 ω 3), 珪藻(20:5 ω 3), 渦鞭毛藻(22:6 ω 3), 陸上植物(25:0, 26:0, 27:0, 28:0, 30:0, 31:0)のバイオマーカーとして分離し解析に用いた(Meziane and Tsuchiya, 2000; Shin et al., 2012)(表-5.2).

5.3.4. 脂肪酸炭素安定同位体比分析

バルク試料の炭素・窒素含有量および炭素・窒素安定同位体比分析は第三章と同様の方法で分析した. さらに, 脂肪酸分析で作成した試料を用い, 検出された脂肪酸のうち, バクテリアのマーカー脂肪酸(18:1 ω 7)

および珪藻のマーカ脂肪酸(20:5 ω 3)を構成する炭素の安定同位体分析を行った．分析には脂肪酸分析で用いたものと同じカラムを用い，ガスクロマトグラフ(TRACE GC Ultra, Thermo Fisher Scientific K. K.)を連結した同位体比質量分析計(Delta-V advantage, Thermo Fisher Scientific K. K.)で分析を行った．キャリアガスにはヘリウムを用いた．

5.3.5. データ解析

データ解析は各分析項目に対し，給餌した餌の種類(藻類・陸上植物)および有機物量 Lv.をカテゴリー因子とした二元配置分散分析，および餌の種類で有機物量を因子とした一元配置分散分析を行った．実験後 *Hediste* sp.のバルクおよび細菌由来脂肪酸の炭素安定同位体比については，各実験系での平均値を目的変量とし，一回の給餌での炭素量を説明変量として回帰分析を行った．統計解析には R(Ver. 3.1.1)を用いた．

5.4. 結果

5.4.1. 有機物添加による底質への影響

a)底質の酸素消費速度

実験後の底質の酸素消費速度は，藻類系で陸上植物系よりも高く，更に各実験系内では給餌有機物量の増加とともに上昇した(表-5.3) (図-5.2)．

b)底質への硫化水素の蓄積

実験後の底質中硫化水素量は，藻類系と陸上植物系(Plant)の両系において，添加有機物量の多い系ほど高濃度の硫化水素が検出された．有機物を添加しないコントロール系，藻類系・陸上植物系の Lv.1 および陸上植物系の Lv.2 では硫化水素は検出されなかった．二元分散分析の結果，検出量は有機物量による効果のみ有意に示され，藻類系・陸上植物系間では有意な差は示されなかった (表-5.4, 図-5.3)．

5.4.2. *Hediste* sp.の生残率，成長率

Hediste sp.の生残率は各実験系および有機物量 Lv.間で有意差がなく，各系の平均は最少 46.7%，最大 66.7%の生残率であった(図-5.4). 二元分散分析の結果，藻類系，陸上植物系間，有機物量 Lv.および交互作用について有意な効果が認められた．しかし，各餌の種類の中での多重比較では，陸上植物系については各有機物量 Lv.での有意差は検出されなかった(表-5.5).

Hediste sp.の成長率は，藻類由来有機物系においてのみ有機物量 Lv.間での有意差が見られ($p=0.005$)，餌濃度 Lv.2, 3 で有機物を添加しないコントロール系と比較して成長率が有意に高かった(表-5.6, 図-5.5).

5.4.3. *Hediste* sp.の脂肪酸組成

藻類系の餌源である *C.calsitrans* の脂肪酸は珪藻由来脂肪酸(20:5 ω 3) がマーカ脂肪酸の 70%以上を占め，緑藻等由来脂肪酸が 13%，細菌由来脂肪酸と渦鞭毛藻由来脂肪酸がそれぞれ 7%であった(表-5.7). 陸上植物系の餌源である落葉リターの脂肪酸は，緑藻等由来脂肪酸がマーカ脂肪酸の 70%を占め，陸上植物由来脂肪酸である長鎖脂肪酸が 9%となった．緑藻等由来脂肪酸は 18:2 ω 6t, 18:2 ω 6c, 18:3 ω 6, 18:3 ω 3 の合計で算出されるが，リター中で検出された緑藻等由来脂肪酸は 33%が 18:2 ω 6 (リノール酸)，67%が 18:3 ω 3 (リノレン酸)であった．

Hediate sp.の脂肪酸含有量は，全系で 15.5~30.2mg/mg の範囲に合った(表-5.8). しかし，餌の種類と給餌有機物量間での二元配置分散分析およびそれぞれの実験系における有機物量 Lv.で有意な差は検出されなかった(図-5.6, 表-5.8).

5.4.4. *Hediste* sp.のバルク，および脂肪酸の炭素安定同位体比

a)バルクの安定同位体比

餌として使用した海洋性藻類 *C.calsitrans* の炭素安定同位体比は $-47.9\pm0.4\text{‰}$ ，陸上植物(Leaf litter)の炭素安定同位体比は $-29.0\pm0.6\text{‰}$ で，*C.calsitrans* で低い炭素安定同位体比を示した(図-5.7).

実験後の *Hediste* sp.のバルクの炭素安定同位体比は、陸上植物系と比較して藻類系で低い傾向を示した。また、餌量の増加とともに炭素安定同位体比は低下した。二元配置分散分析の結果、餌の種類および餌の量それぞれの主効果および交互作用はいずれも有意であった(表-5.9)。

b)細菌由来脂肪酸の炭素安定同位体比

Hediste sp.に含まれていた細菌のマーカ脂肪酸(18:3 ω 7)の炭素安定同位体比は藻類系、陸上植物系の両系において添加有機物量の増加に従って減少する傾向があった。陸上植物系と比べ藻類系で添加有機物量に対して著しく低下した。二元配置分散分析の結果、実験系、有機物量Lv.それぞれで有意差があり、かつ交互作用が示された(表-5.10)。

c)珪藻由来脂肪酸の炭素安定同位体比

実験後の *Hediste* sp.に含まれていた珪藻由来脂肪酸 20:5 ω 3 の炭素安定同位体比は、餌の種類および有機物量の有意な効果がみとめられた(表-5.11)。

5.5. 考察

5.5.1 陸上植物由来有機物の多量の堆積による底質悪化の可能性

干潟や沿岸環境では、有機物の堆積による底質の貧酸素化やそれに伴う硫化水素の発生が生物生息を制限する要因とされている。貧酸素化は生物の呼吸を直接的に阻害することに加え、貧酸素化に伴う硫化水素の発生は生物の呼吸に影響を与える(Smith et al., 1977)。本実験においても、有機物の蓄積量に伴い硫化水素の発生率が上昇したが、生物の生残率に有機物量による影響は見られなかった。本実験では常時エアレーションを行っており、週に一度の海水交換により底質中の間隙から酸素が触れる機会があったため、全般的には有機物の蓄積による酸素消費や還元化はあまり進行しなかったと考えられる。しかしながら、飼育実験終了後に採取した底質を用いた酸素消費実験の結果、陸上植物系、藻類系ともに添加有機物量の多い系において酸素消費速度が高く、さらに藻

類系でより高い酸素消費速度が示されたことから、底質の持つ酸素消費ポテンシャルについては、蓄積量および蓄積有機物の質的な違いが大きく影響していたと考えられる。有機物の蓄積による酸素消費は有機物を分解する微生物の働きによるものである。藻類由来有機物は易分解性有機物であるのに対し、陸上植物由来の有機物は藻類由来有機物と比べ組織が硬く、難分解性有機物である(Enriquez and Duarte, 1993)。この分解性の違いが微生物による酸素消費速度の違いとして現れたものと考えられる。一方で、分解基質である有機物の蓄積は、易分解性有機物だけでなく、難分解性有機物であってもその堆積量に従って微生物分解を促進させ、底質の化学的性状にも作用していたといえる。

5.5.2 *Hediste* sp.に対する陸上植物由来有機物の餌料価値

藻類は干潟の底生生物にとって質の良い餌源として知られており、今回の実験においても藻類添加系では有機物の添加によって *Hediste* sp. の成長が促進され、同化も認められた。一方で、陸上植物系では有機物を添加していないコントロール系の成長率と有意差がなく、陸上植物の直接的な同化やそれによる成長の促進はないと考えられた。

自然環境中における藻類由来有機物の炭素安定同位体比は、陸上植物由来有機物のそれと比べ光合成経路や同化する二酸化炭素の炭素安定同位体比の違いからより高い値を示すことが一般的に言われている(e.g. Meyers, 1994)。また、生物体の炭素安定同位体比がその生物の餌の炭素安定同位体比に近づくといった特徴に基づき、有機物の炭素安定同位体比はその起源推定や生物の餌起源推定にも用いられている(富永・高井, 2008)。一方、今回の実験で与えたりターおよび *C.calsitrans* の炭素安定同位体比はそれぞれ $-29.0 \pm 0.6\%$ 、 $-47.9 \pm 0.4\%$ であり、陸上植物よりも *C.calsitrans* で低い値を示していた。これは、用いた *C.calsitrans* が人工培養によって得られたものであることが原因と考えられる。本実験の結果の解釈において、この点については注意が必要である。

実験後の *Hediste* sp. のバルクの炭素安定同位体比はどの有機物量においても藻類系で陸上植物系よりも低く、かつ藻類・陸上植物系とも有

機物添加量が上がるごとに低下した．このことから，大きな成長率が見られなかった陸上植物系においても，添加した陸上植物由来有機物の同化が行われていたことが示唆された．既往の研究によると，蒲生干潟に生息しているカワゴカイ *Hediste* spp.の炭素安定同位体比は-19.1 から -15.0‰で，底生珪藻の同化が示唆されている(Kanaya et al., 2008). *Hediste* spp.をはじめいくつかの底生生物の炭素安定同位体比は生息場によって異なる値を示し，河川の流入の多い場ではより低い値を示していることから，陸上植物由来有機物の同化が示唆されている(Kanaya et al., 2008). Kikuchi and Wada(1996)は現地調査に基づく研究で，高等植物を摂食している底生生物の高い窒素安定同位体比は，微生物による分解後の同化によるものと考察している．本実験では陸上植物系の *Hediste* sp.は餌量の上昇に伴いバルクの炭素安定同位体比が低下する傾向にあったことに加え，陸上植物系の *Hediste* sp.に含まれていた細菌のマーカー脂肪酸 18:1 ω 7 の炭素安定同位体比についても低下する傾向が見られた．このことから，本実験において *Hediste* sp.は，細菌を介し難分解性有機物である陸上植物由来有機物の同化を行っていたことが示唆された．*Hediste* sp.による陸上植物由来有機物および細菌類の同化は，Shin による現場調査の結果からも示唆されており(Shin et al., 2012)，本研究の室内実験により *Hediste* sp.による陸上植物由来有機物の同化とその過程が明らかとなった．

5.5.3 *Hediste* sp.の成長と脂肪酸含有量の関連性

陸上植物系，藻類系双方で，*Hediste* sp.の脂肪酸およびバルクの炭素安定同位体比は，添加有機物量と有意な負の関係を示していたことから，両系ともに *Hediste* sp.の体組織を構成する脂肪酸およびバルクの炭素源として，添加餌料が反映されていたと考えられる．しかしながら，著しい成長が見られた藻類系においても有機物濃度による *Hediste* sp.の脂肪酸含有量に有意差はなかった．*Hediste* sp.に含まれる脂肪酸量は *Hediste* sp.の成長率に反映されておらず，成長率と *Hediste* sp.の脂肪酸量の関係は不明であった．給餌された藻類由来有機物は *Hediste* sp.

の体内で炭素源として蓄積される一方、脂肪酸としては代謝を通して速やかに消費されているものと考えられる。

5.6. 結論

本章では河口干潟底生生物 *Hediste* sp.を用いた室内飼育実験によって、以下の知見が得られた。

- 1) 底質の硫化水素濃度測定および実験後の底質を用いた酸素消費実験の結果より、有機物の添加は分解性の違いに関わらず添加量の増大によって微生物分解を促進し、酸素消費を高めることが示唆された。有機物の分解性は既往の知見でも示されている通り藻類由来有機物で顕著に高く、底質への多量の堆積は底質の嫌気化をもたらす可能性が考えられる。一方、難分解性であり分解による短期間での酸素消費が少ないと考えられる陸上植物由来有機物についても、添加量の増加で実験期間中に硫化水素が検出されたことから、陸上植物由来有機物についても短期間での多量の堆積は底質を悪化させる可能性が示唆された。
- 2) 藻類系の *Hediste* sp.の成長率は、陸上植物系の *Hediste* sp.と比較して顕著に高く、藻類が *Hediste* sp.の成長に対し有用な餌源であることは明らかであった。一方で、陸上植物系では、著しい成長は示されなかったものの生残率については両系で差がなく、生残に必要な栄養分が供給されていたことが考えられる。さらに、陸上植物を与えた *Hediste* sp.の炭素安定同位体比が、与えた有機物量の増加とともに有意に低下していたことから、陸上植物由来有機物も同化されることが明らかとなった。
- 3) 陸上植物由来有機物を与えた *Hediste* sp.に含まれていた脂肪酸のうち、細菌由来の脂肪酸として用いられる 18:1 ω 7 の炭素安定同位体比が、バルクの炭素安定同位体比と同様、与えた有機物量の増加に対して有意に低下していた。このことから、陸上植物由来有機物を与えた *Hediste* sp.は、陸上植物由来有機物に付着した細菌を同化しており、*Hediste* sp.による陸上植物由来有機物の同化は、陸上植物由

来有機物を分解・同化した細菌を介して行われていることが示唆された。

第五章参考文献

- Abdulkadir, S., Tsuchiya, M., 2008. One-step method for quantitative and qualitative analysis of fatty acids in marine animal samples. *J. Exp. Mar. Bio. Ecol.* 354, 1–8. doi:10.1016/j.jembe.2007.08.024
- Enriquez, S., Duarte, C.M., 1993. Patterns in decomposition rates among photosynthetic organisms: the importance of detritus C:N:P content. *Oecologia* 94, 457–471.
- Kanaya, G., Takagi, S., Kikuchi, E., 2008. Spatial dietary variations in *Laternula marilina* (Bivalva) and *Hediste* spp. (Polychaeta) along environmental gradients in two brackish lagoons. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 359, 133–144. doi:10.3354/meps07356
- Meyers, P.A., 1994. Preservation of elemental and isotopic source identification of sedimentary organic matter. *Chem. Geol.* 114, 289–302. doi:10.1016/0009-2541(94)90059-0
- Meziane, T., Tsuchiya, M., 2000. Fatty acids as tracers of organic matter in the sediment and food web of mangrove/intertidal flat ecosystem, Okinawa, Japan. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 200, 49–57. doi:10.1016/S1385-1101(01)00092-2
- Shin, W.S., Fujibayashi, M., Nomura, M., Nakano, K., Nishimura, O., 2012. Fatty acid composition between *Nuttallia olivacea* and *Hediste* spp. in the Nanakita estuary, Japan: estimation of food sources. *J. Water Environ. Technol.* 10, 11–22. doi:10.2965/jwet.2012.11
- Smith, L., Kruszyna, H., Smith, R.P., 1977. The effect of methemoglobin on the inhibition of cytochrome c oxidase by

cyanide, sulfide or azide. *Biochem. Pharmacol.* 26, 2247–2250.

doi:10.1016/0006-2952(77)90287-8

佐藤正典, 2006. 干潟における多毛類の多様性. 地球環境 Vol.11 No.,
191–206.

佐藤正典, 2004. 多毛類の多様性と干潟環境：カワゴカイ同胞种群の研究. *Palaeontol. Soc. Japan* 76, 122–133.

高井則之, 富永修, 2008. 安定同位体比分析を始める人たちに, 安定同位体スコープで覗く海洋生物の生態-アサリからクジラまで, 富永修, 高井則之編, 恒星社厚生閣, pp9-30

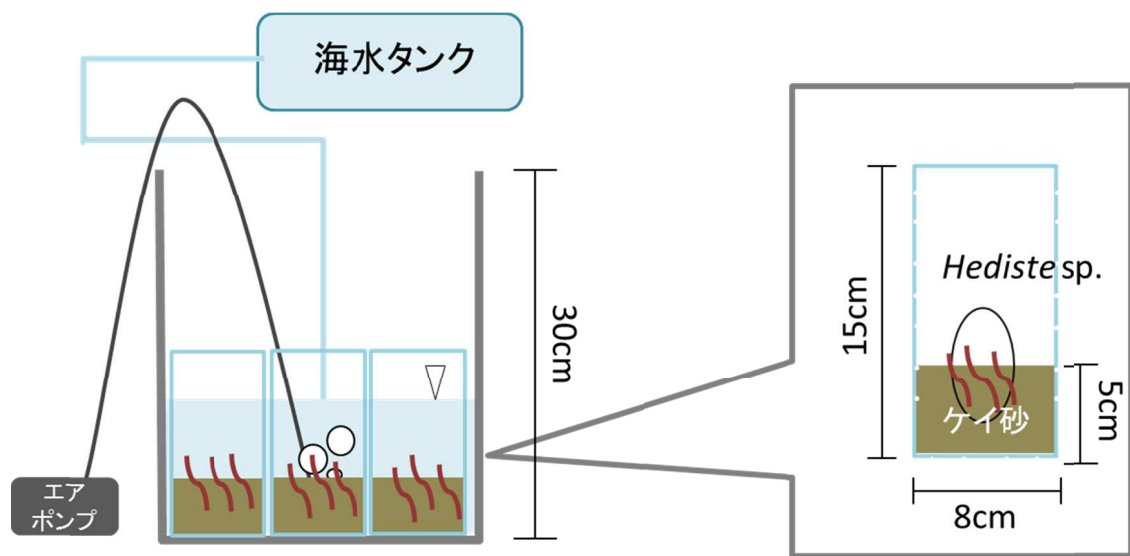
表-5. 1 各系への一週間当たりの給餌量

餌量 Lv.	基準餌量 からの倍率	<i>C.calsitrans</i> (藻類系)	乾燥リター(陸上植物系)
		mgC/week	mgC/week
Lv.1	1/5	27	18
Lv.2	0(基準)	134	90
Lv.3	2.5	336	224
Lv.4	5	672	449

表-5. 2 本研究で用いた脂肪酸のバイオマーカー

Source	Biomarkers
細菌	i-15:0, a-15:0, i-16:0, i-17:0, 18:1 ω 7
緑藻等	18:2 ω 6t, 18:2 ω 6c, 18:3 ω 6, 18:3 ω 3
珪藻	20:5 ω 3
渦鞭毛藻	22:6 ω 3
陸上植物	25:0, 26:0, 27:0, 28:0, 30:0, 31:0

a)



b)

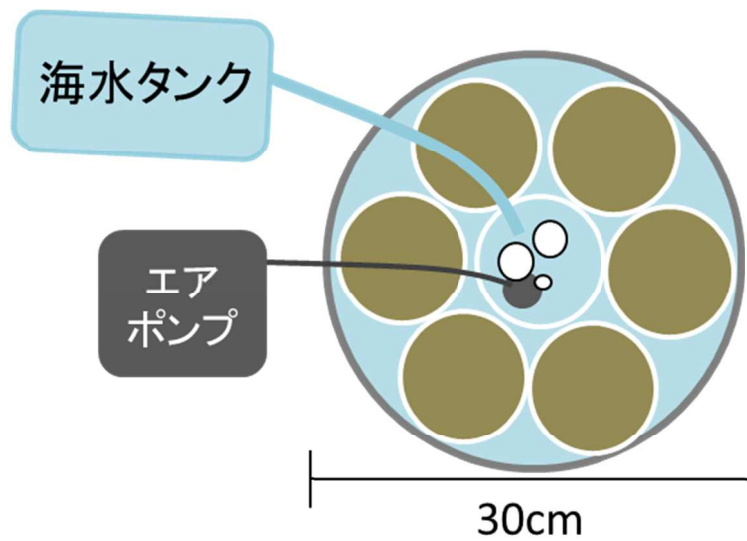


図-5. 1 実験装置(a:側面, b:上面)

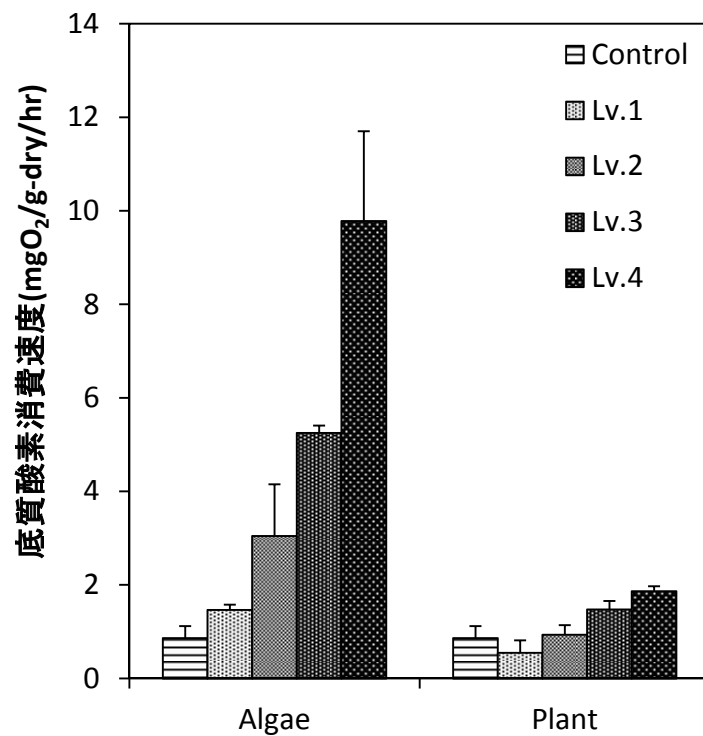


図-5. 2 実験後底質の酸素消費速度(Algae：藻類系，Plant：陸上植物系)

表-5. 3 実験後底質の酸素消費速度に対する実験系および有機物濃度の二元配置分散分析結果(Type：実験系，Lv.：有機物量 Lv.)

	Df	MS	<i>F</i>	<i>p</i>
Type	1	90.52	86.18	<0.0001
Lv.	1	65	61.88	<0.0001
Lv.×Type	1	52.39	49.88	<0.0001
Residual	26	1.05		

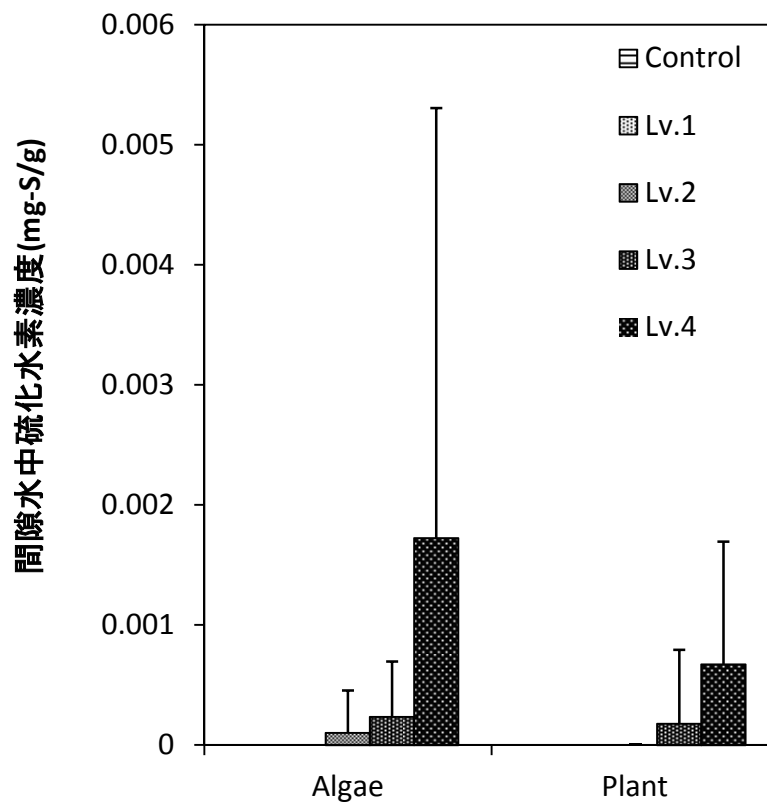


図-5.3 実験後底質の間隙水中硫化水素濃度(Algae：藻類系，Plant：陸上植物系)

表-5.4 実験後底質の間隙水中硫化水素濃度に対する実験系および有機物濃度の二元配置分散分析結果(Type：実験系，Lv.：有機物量 Lv.)

	Df	MS	<i>F</i>	<i>p</i>
Type	1	1.24E-06	0.85	0.34
Lv.	1	1.34E-05	9.23	0.003
Lv.×Type	1	2.12E-06	1.46	0.23
Residual	88.1	1.45E-06		

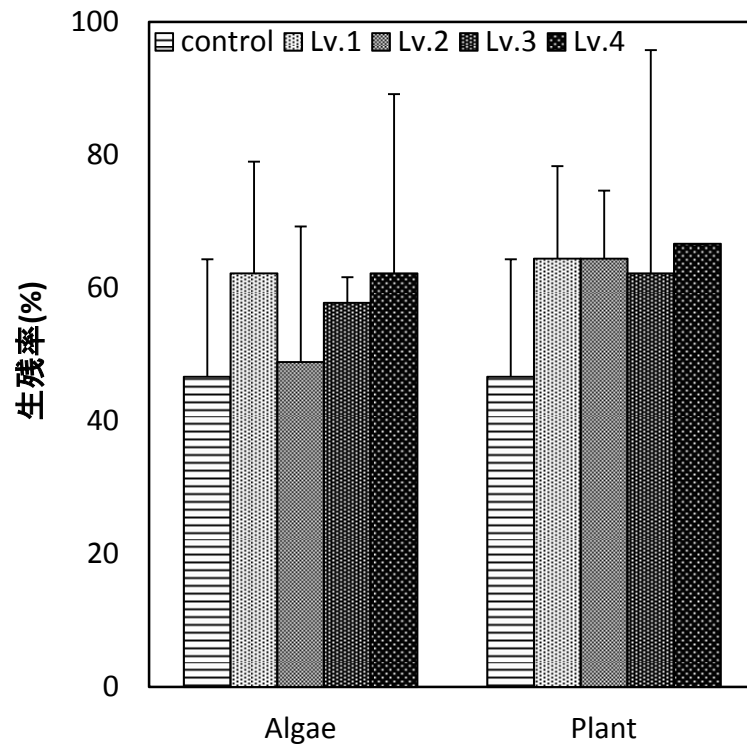
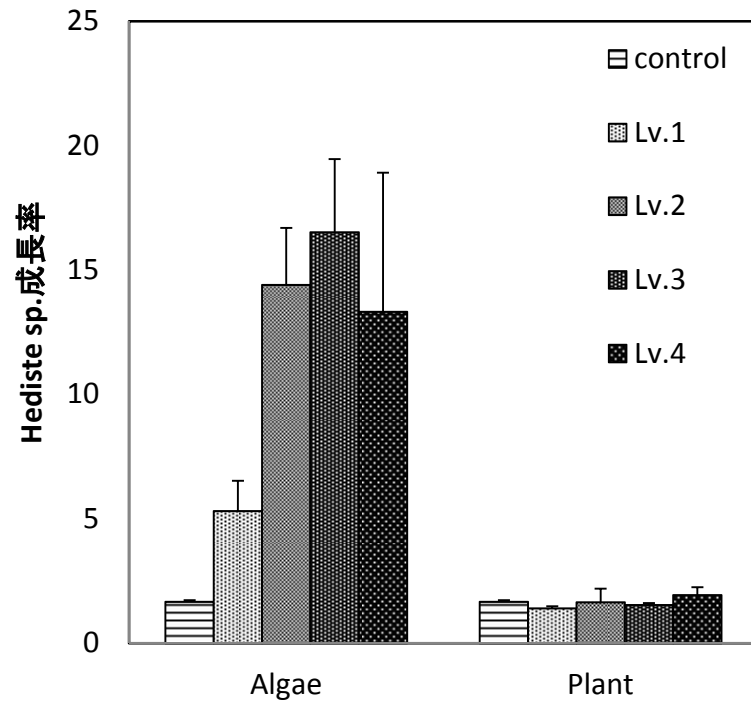


図-5. 4 実験後 *Hediste* sp.生残率(Algae：藻類系，Plant：陸上植物系)

表-5. 5 実験後 *Hediste* sp.生残率に対する実験系および有機物濃度の二元配置分散分析結果(Type：実験系，Lv.：有機物量 Lv..)

	Df	MS	<i>F</i>	<i>p</i>
Type	1	389.6	0.94	0.34
Lv.	1	62	0.15	0.7
Lv.×Type	1	501.4	1.22	0.28
Residual	26	412.6		



$$\text{成長率} = \frac{(\text{実験後総湿重量} / \text{回収総個体数})}{(\text{実験前総湿重量} / (\text{初期総個体数}))}$$

図-5. 5 実験後 *Hediste sp.*の成長率(Algae：藻類系，Plant：陸上植物系)

表-5. 6 実験後 *Hediste sp.*の成長率に対する実験系および有機物濃度の二元配置分散分析結果(Type：実験系，Lv.：有機物量 Lv..)

	Df	MS	<i>F</i>	<i>p</i>
Type	1	555.6	34.6	<0.0001
Lv.	1	187.3	11.7	0.002
Lv.×Type	1	170.5	10.6	0.003
Residual	26	16.1		

表-5.7 実験後 *Hediste* sp.に含まれていたマーカ―脂肪酸組成

マーカ―脂肪 酸	マーカ―脂肪酸組成(%)	
	<i>C. calcitrans</i>	Leaf litter
細菌	7.8	0.0
緑藻等	14.4	70.4
珪藻	75.1	0.0
渦鞭毛藻	2.8	0.0
陸上	0.0	29.6

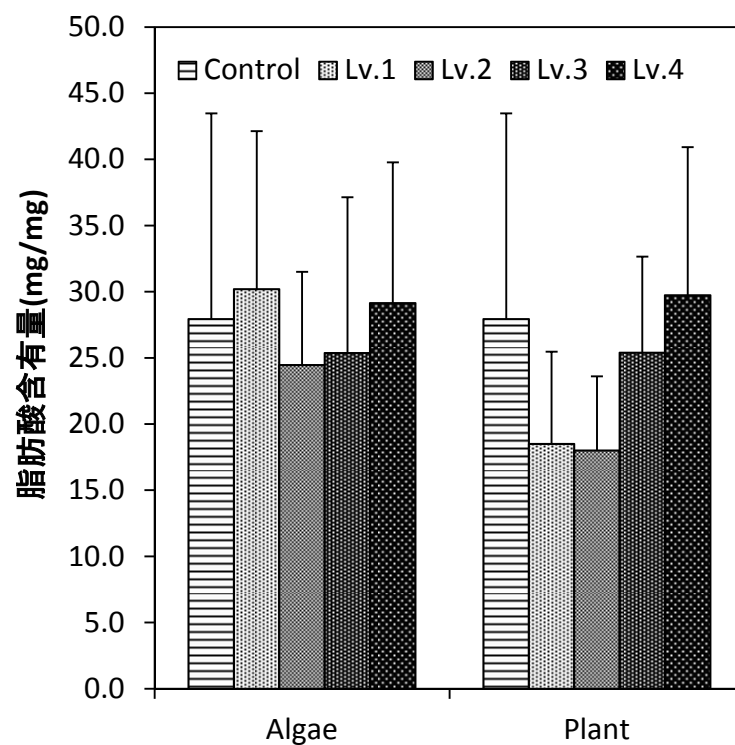


図-5. 6 実験後 *Hediste sp.*の脂肪酸含有量(Algae：藻類系， Plant：陸上植物系)

表-5. 8 実験後 *Hediste sp.*の脂肪酸含有量に対する実験系および有機物濃度の二元配置分散分析結果(Type：実験系， Lv.：有機物量 Lv.)

	Df	MS	<i>F</i>	<i>p</i>
Type	1	244.5	1.9	0.2
Lv.	1	25.8	0.2	0.7
Lv.×Type	1	60.9	0.5	0.5
Residual	65	125.6		

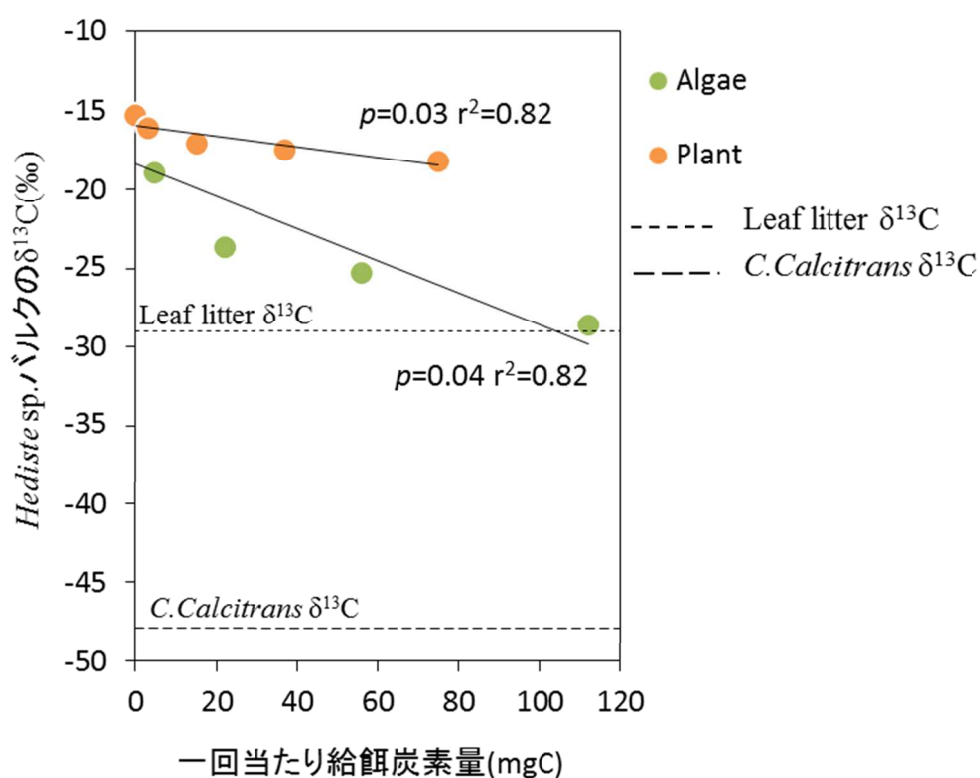


図-5.7 一回当たりの給餌炭素量と実験後 *Hediste* sp.のバルクの炭素安定同位体比の関係

表-5.9 実験後 *Hediste* sp.のバルクの炭素安定同位体比に対する実験系および有機物濃度の二元配置分散分析結果(Type: 実験系, Lv.: 有機物量 Lv.)

$\delta^{13}\text{C}$	Bulk			
	Df	MS	<i>F</i>	<i>p</i>
Type	1	683.9	91.1	<0.0001
Lv.	1	735.2	98.0	<0.0001
Lv.×Type	1	299.9	40.0	<0.0001
Residual	85	7.5		

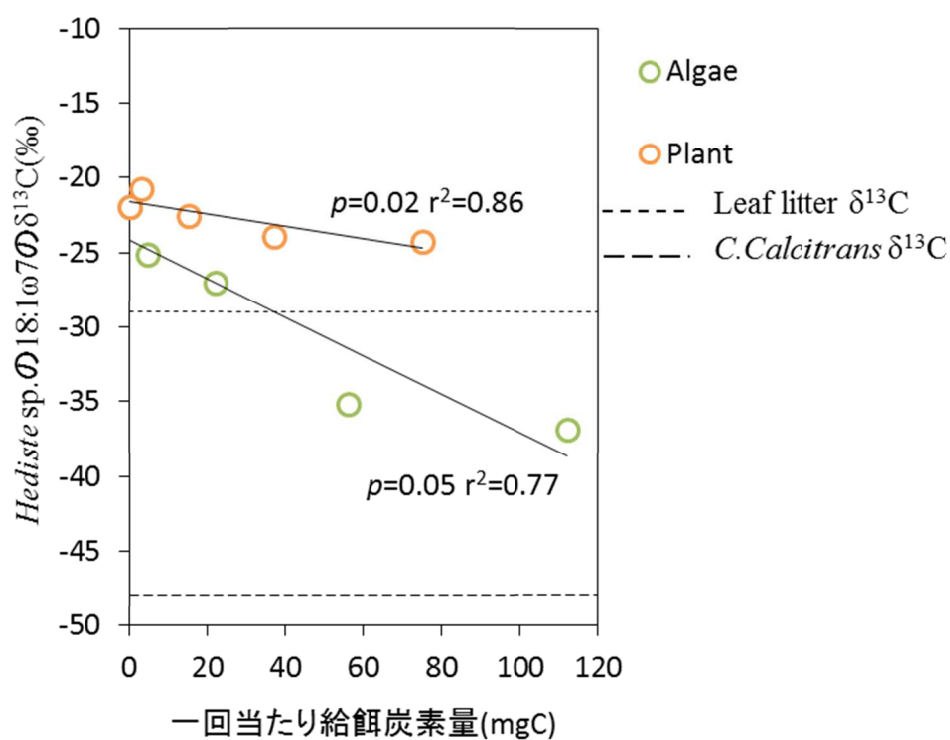


図-5. 8 一回当たりの給餌炭素量と実験後 *Hediste* sp.に含まれていた細菌由来脂肪酸 18:1ω7 の炭素安定同位体比の関係

表-5. 8 実験後 *Hediste* sp.の細菌由来脂肪酸(18:1ω7)の炭素安定同位体比に対する実験系および有機物濃度の二元配置分散分析結果

(Type: 実験系, Lv.: 有機物量 Lv.)

$\delta^{13}\text{C}$	18:1ω7			
	Df	MS	<i>F</i>	<i>p</i>
Type	1	320.0	46.6	<0.0001
Lv.	1	341.2	49.7	<0.0001
Lv.×Type	1	153.5	22.4	<0.0001
Residual	26	6.9		

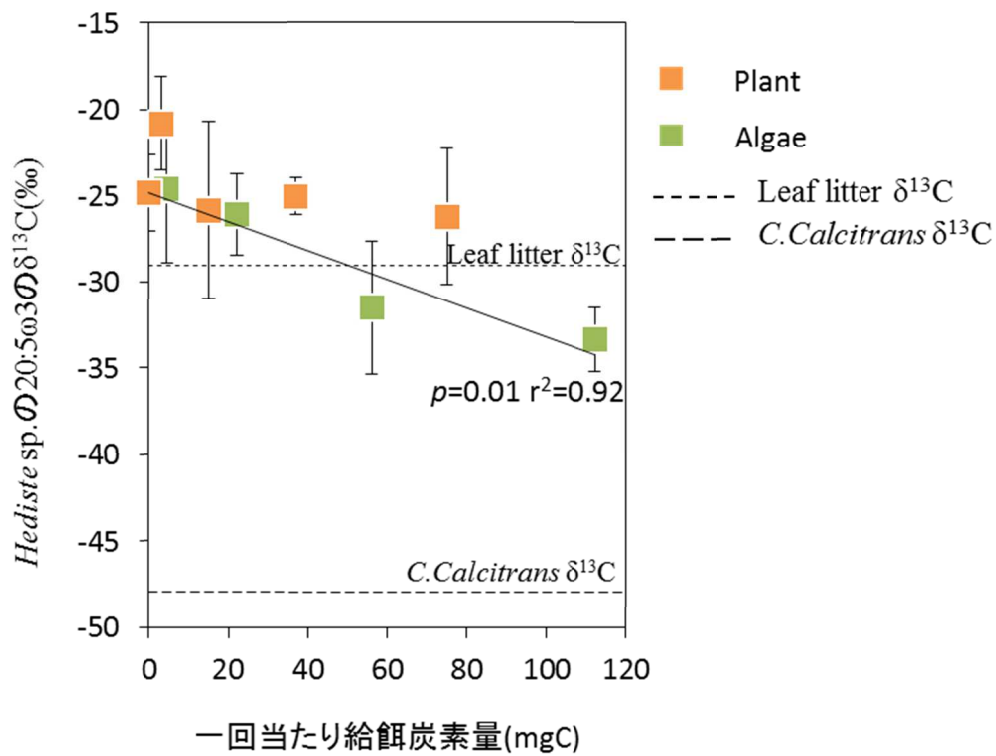


図-5. 9 *Hediste* sp.珪藻由来脂肪酸(20:5ω3)の炭素安定同位体比

表-5. 11 実験後 *Hediste* sp.に含まれていた珪藻由来脂肪酸(20:5ω3)に対する実験系および有機物濃度の二元配置分散分析結果

(Type: 実験系, Lv.: 有機物量 Lv.)

	Df	MS	F	p
Type	1	683.9	91.1	<0.0001
Lv.	1	735.2	98.0	<0.0001
Lv.×Type	1	299.9	40.0	<0.0001
Residual	85	7.5		

第六章 河口干潟底生生物の成長に対する馴化過程の異なるリター起源有機物の寄与

6.1 緒論

河口域に堆積する陸上植物由来有機物は、通常、河川を流下する過程で微生物による分解作用を受け粒状有機物として堆積する。Caraco ら (1998) が示すように、微生物は有機物を分解する過程で水中や周辺環境から N を同化し有機物の質、つまり窒素含有量を変化させることが知られている。微生物によるコンディショニングによって、繊維質の軟体化、細粒化、炭素と比べ生物にとって律速となりがちな窒素の補給等が行われ、陸上植物由来有機物の餌源としての価値の向上が期待される。

河川はその上流と下流で環境条件が大きく異なる。例えば上流は下流と比べ川幅が狭く、河畔植生による日光の遮断時間がより長いことが考えられる。また、河川水質は流域内の土地利用条件などによって栄養塩濃度や有機物負荷が異なり、河川下流ではより多くの人為的な影響が集積されていると考えられる。さらに河口域では海水の混合で塩性環境となることから、河川間、河川内でも異なる微生物相の形成されることが考えられる。このような環境条件の違いは、有機物の分解作用にも影響すると考えられる。

本章では、馴化条件の違いが陸上植物起源有機物の分解の化学的性質に及ぼす影響を目的とした。河川上流、下流、河口域の異なる環境から採取した直上水をおよび底質からの植種源を用い、さらに栄養塩条件を変えて室内におけるリター馴化実験を行い、落葉リターの質への影響を評価した。さらに、異なる馴化過程を経た陸上植物由来有機物が河口干潟底生生物への餌料としての役割に及ぼす影響を評価するため、上記の馴化後のリター有機物を給餌する *Hediste* sp. を用いた室内飼育実験を行った。

6.2. 実験方法

6.2.1. 落葉リター馴化実験

リターは第五章と同じ，広瀬川水系青下川において，河川上空に設置したリタートラップから回収したものを用いた．リターの異なる馴化過程を再現するため，河川上流，下流，河口域から採取した植種源および直上水を用いて馴化を行った．各実験系の植種源および供試水は，比較的清澄な河川上流(青下川)，およびその下流に位置する広瀬川，さらにその河口に位置する河口干潟広浦のそれぞれ 3 地点から採取した．植種源は各地点の底質とした．河川上流は下流とくらべ河畔林のため直射日光が少なく，下流，河口干潟では日光は遮断されない環境にあった．河川下流では遡上した魚類の遺骸も見られた．

リター馴化では各実験系についてフラスコを 3 つ準備し並列して実験を行った．青下川(U:Upstream)，広瀬川河川水(D:Downstream)，広浦海水(E:Estuarine)の異なる 3 地点の直上水と各地点から採取した植種源が添加された 3 系に加え，各実験系の水中に栄養塩を添加した栄養塩添加系 3 系(UN, DN, EN)を加え合計 6 系を設定した(表 6.1, 図 6.1)．

風乾，粉碎し 1 mm 以下にふるったリター粉末約 200g を 300ml の三角フラスコに入れ，青下川，広瀬川の河川水および広浦の海水をそれぞれ 300ml 目盛りまで満たした．エアレーションとマグネチックスターラーによる攪拌を行い，暗条件，20℃の下で馴化を行った．実験に用いた三角フラスコ，エアストーン，シリコ栓はオートクレーブ滅菌を施したものを用いた．栄養塩添加系の河川水・海水には， $\text{NO}_3\text{-N}$ ($\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ を使用)， $\text{NH}_4\text{-N}$ (NH_4Cl を使用)をそれぞれ 2 mg-N/L， $\text{PO}_4\text{-P}$ ($\text{NaOHPO}_4\cdot 12\text{H}_2\text{O}$ を使用)を 0.8 mg-P/L 上昇させるよう添加した．

採水及び水の交換は 10 日毎に行った．エアレーションとスターラー停止後十分静置し，上澄み 30ml をシリンジで採水，0.45 μm メンブレンフィルターで濾過し冷凍した．採水後，シリンジを用いて上澄みを除去し，各実験系の新たな河川水・海水を三角フラスコの 300ml 目盛りまで満たした．各系の河川水，海水は実験期間中エアレーションを継続して保存していたものを用い，栄養塩添加系については栄養塩を添加した水

を水交換の度に作成し実験に供した．さらに，馴化期間中，各実験系の馴化条件の系間の差を確実に持続させるため，実験期間中は，青下川河床底質，広瀬川河床底質，広浦底質を各地点の水を用いてエアレーションを行いながら常温で保存し，直上水 1mL を水交換毎に各系のフラスコにそれぞれ添加した．

リターの馴化は 2015 年 12 月 26 日から開始した．馴化開始から 40 日目および 50 日目，新たな水を加える前に一部リターを採取し，*Hediste* sp 飼育実験(6.2.2.馴化リターによる *Hediste* sp の飼育実験に詳述)への給餌，および炭素・窒素元素分析(C/N, $\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$)に供した．馴化から 60 日目，各化学分析および *Hediste* sp 飼育実験用リターを採取し馴化を終了した．実験後リターの化学組成との比較対象として，馴化を行っていないリターについて同様に炭素・窒素の含有量と安定同位体分析を行った．馴化から 40 日目，60 日目のリターについては上記分析に加え脂肪酸分析を行った．

6.2.2. 馴化リターによる *Hediste* sp.飼育実験

2016 年 2 月 4 日より，6.2.1.のリター馴化実験と並行して，馴化リターを餌源とした底生生物飼育実験を行った．使用した生物は多毛類ゴカイ科 *Hediste* sp.で，2015 年 1 月，蒲生干潟にて表層底質を 1mm メッシュで篩い採取した．実験開始までの 13 日間，熱処理済みケイ砂を敷き濾過海水を満たしたプラスチック容器内で無給餌，暗条件，20℃にて初期飼育した．実験では湿重量 0.003g~0.023g までの個体を用いた．実験後の *Hediste* sp.の脂肪酸組成との比較対象として初期飼育直後の *Hediste* sp.3 個体を脂肪酸分析に供した．

馴化リターによる飼育では，GF/F フィルタで濾過しエアレーションを行った沿岸海水を満たした各 50ml ポリ容器内に *Hediste* sp.1 個体を入れ，6.2.1.で行った実験により得られた各種馴化条件のリターを与えた．リターの各種馴化条件に対し，9 系並列で飼育を行った．

2016 年 2 月 4 日に馴化 40 日目のリターを与えて飼育を開始し，その 10 日後に馴化 50 日目のリターを，さらに飼育 20 日後に馴化 60 日目リ

ターを与えて、飼育 30 日後、*Hediste* sp.とボトル内のリターを回収して実験を終了した。実験で用いた海水は実験期間中エアレーションを継続して行い、給餌と同時に水替え行った。飼育実験は暗条件、20℃で行った。飼育実験終了時に回収した *Hediste* sp.およびリターは分析まで -30℃で冷凍保管した。

6.3. 測定・分析

6.3.1. 馴化リターの酸素消費速度測定

リター馴化から 58 日目、各リター馴化系において、馴化を経てリターに付着した微生物の有機物分解活性を比較するためリターの酸素消費速度を測定した。各系のフラスコ内の水およびリターをそれぞれ酸素消費測定用の蓋付き三角フラスコに入れ暗条件で 10 分後、30 分後、1 時間後、2 時間後に溶存酸素濃度を測定した(スタンドアロン型酸素濃度計、MicroX4, PreSens)。測定終了後、密栓状態のフラスコを振とう攪拌し、フラスコ内のリターを均一にしたのち、リター粉末を含む馴化水の一部をガラス繊維ろ紙 GF/F で濾過、60℃で一昼夜乾燥させ炭素・窒素元素分析に供した。酸素消費実験後、馴化液およびリターは馴化実験用フラスコに戻し、馴化を継続した。

6.3.2. 化学分析

馴化前、馴化 40 日目、50 日目、60 日目のリターについては炭素・窒素含有量および安定同位体分析を行い、馴化 40 日目、60 日目のリター、および飼育実験前と実験後 *Hediste* sp.については脂肪酸分析を行った。炭素・窒素含有量および安定同位体分析と脂肪酸分析は第三章、第五章での手法に従って行った。

6.3.2. データ解析

馴化後リターの各実験系間での酸素消費速度については二元分散分析による比較を行った。馴化後リターおよび *Hediste* sp.に含まれていた脂肪酸組成の各実験系間での相対的な比較は主成分分析を用いた。また、

各実験系間での *Hediste* sp. の成長率について Tukey-HSD を行った．統計解析には R(Ver.3.1.1)を用いた．

6.4. 結果

6.4.1. 馴化によるリターの化学組成変化

a) リターの炭素量当たり酸素消費速度

リターの炭素量あたりの酸素消費速度は，二元配置分散分析の結果，植種源，およびそれと栄養塩添加の有無との交互作用は認められなかった．いずれの地点の植種源でも高栄養塩添加の系で高い傾向を示した(図-6.2，表-6.2)

b) リター中炭素・窒素含有量の経時変化

馴化 60 日目のリターの炭素含有量は河口の条件の系 E・EN とともに初期値と比べ有意に減少し，河川の系 D，DN，U，UN についてはいずれも初期と 60 日目で有意差な変化が認められなかった(表-6.3)．E，EN の炭素含有量はともに 40 日目に大きく低下したが，その後，40 日目と 50 日目では炭素含有量に変化はみられなかった(図-6.3)．

60 日目の窒素量は初期リターと比べ，E は初期と比べ 40 日目に大きく低下し，その後 50 日目，60 日目は変化しなかった(図-6.4)．EN は初期リターと比べ，実験終了時である 60 日目に増加していた．D，DN はともに初期と比べ 60 日目に増加していたのに対し，E，U は減少，EN，UN は栄養塩添加系で増加していた

60 日目の C/N は，地点によらず栄養塩を添加した EN，DN，UN のいずれも初期リターと比べ低下していた(図-6.5)．D は初期と比べ 60 日目で低下，U は上昇していた．一方，E は 60 日目の C/N に有意な変化は認められなかった．

c) リターの脂肪酸組成

馴化開始後 40 日目，60 日目のリターのマーカー脂肪酸割合の主成分分析では，第一軸，第二軸によって全体の 86.4%(PC1: 64.1%，

PC2:22.3%)が説明された(図 6.6). マーカー脂肪酸割合の結果では 60 日目の栄養塩添加系(30EN, 30DN, 30UN)のリターには細菌由来脂肪酸が比較的多く含まれ, 40 日目のリターの栄養塩添加系(10EN, 10DN, 10UN), 非添加系(10E, 10D, 10U)には細菌由来脂肪酸が少ないことがわかった.

必須脂肪酸割合の主成分分析では第一軸, 第二軸によって全体の 74.6%(PC1: 46.4%, PC2: 28.2%)が説明された(図 6.7). 60 日目の栄養塩添加系のリターはトランス型リノール酸 18:2 ω 6t が比較的多く馴化時間とともに増加していた.

6.4.2. 馴化リターの給餌による *Hediste* sp.の成長および体組成

a) *Hediste* sp.の成長率

馴化リターの給餌による *Hediste* sp.の成長率は植種源採取地点と栄養塩添加の有無によって有意な差を示したが, それぞれの相互作用の効果は認められなかった(表-6.4). *Hediste* sp.の成長率は, DN, UN で他系と比べ有意に高く, またゼロを上回った(DN: paired *t*-test, $p<0.001$, UN: $p=0.04$)(図-6.10). 一方, 栄養塩非添加系の D, U では成長率がゼロと有意な差を示さず(D: paired *t*-test, $p=0.30$, U: $p=0.72$), E, EN では成長率はゼロを下回った(paired *t*-test, $p<0.01$).

b) *Hediste* sp.の脂肪酸含有量および脂肪酸組成

馴化したリターを与えた *Hediste* sp.の総脂肪酸含有量は, 全系について初期の *Hediste* sp.との有意差はなかった(図-6.11). マーカー脂肪酸割合の主成分分析では, 第一軸, 第二軸で全体の分散の 76.2%(PC1: 53.5%, PC2: 22.7%)を説明し, 必須脂肪酸割合の主成分分析では 69.8%(PC1: 38.2%, PC2: 31.6%)を説明した. 実験系間で大きく分散し, 実験系での特徴は見受けられなかった.

c) 給餌リターの化学組成と *Hediste* sp. の成長率との関係

Hediste sp. の成長率は、給餌したリターの積算炭素・窒素量と関係を示さなかったのに対し、C/N は負の関係にあった(図-6.16). 特に C/N が低かった栄養塩添加系では、高い成長率を示した *Hediste* sp. の個体がみられた.

6.5. 考察

6.5.1. リター由来有機物の化学組成に及ぼす馴化条件の違いの影響

リターの炭素含有量は、淡水系の U, UN, D, DN と比べ海水系の E, EN で 40 日目に初期値よりも大きく低下した. 各栄養塩条件において、地点間で酸素消費速度に差がなく、さらに 40 日目以降、炭素含有量は U, D と同様大きな変化を示さなかったことから、E, EN における炭素量の低下は微生物の分解によるものではなく、海水への溶脱であることが推察される.

一般的に、底質やその直上水での酸素消費は有機物の無機化、すなわち微生物による好氣的分解による. また分解作用をうける有機物の特性によって、酸素消費速度が異なることが知られている(岡田 et al., 2012). 本研究では、栄養塩非添加系と比べ栄養塩添加系で酸素消費速度が高く、微生物による分解活性と関連したリターの質的な変化が、酸素消費速度の違いとして現れたものと推察される. Gulis (2003) らは現場実験で、栄養塩濃度の高い河川の上流区間と栄養塩濃度の低い下流区間において二種の葉を用いた分解実験を行っている. その中で、両種ともに栄養塩濃度の高い区間で分解率や微生物の呼吸量が著しく高かったとしている. このことから、本実験における栄養塩添加系での酸素消費速度が高かった要因として、栄養塩添加系での高い微生物活性が考えられる. さらに、微生物は有機物分解の過程で、周囲から窒素を同化し有機物の窒素含有量を増加させることが知られているが(Caraco et al., 1998; Cook et al., 2007), 本実験では、すべての地点の栄養塩添加系のリターで、栄養塩非添加系のリターと比べ窒素含有量が高くなった. これらのことから、本実験でみられた栄養塩添加系における窒素量の増加と高い

酸素消費は、リター表層の微生物によるリターの分解と、その過程における水中に豊富に存在した無機窒素の同化によるものと考えられる。リターに含まれる必須脂肪酸の主成分分析では、栄養塩添加系で 18:2 ω 6(リノール酸)が比較的高い傾向にあった。この脂肪酸は、植物油脂に由来する不飽和脂肪酸として知られるが、同時に細菌のマーカーとしても用いられている(Frostegard et al., 1996; Klammer and Bååth, 2004)。栄養塩添加系の 60 日目のリターは、マーカー脂肪酸の主成分分析においても細菌由来脂肪酸が比較的高かったことが示されており、このことから栄養塩添加と馴化の進行に伴うリターへの付着細菌類の増加が示唆される。

酸素消費および有機物の分解に関わる微生物として細菌および真菌類があげられる。Gulis and Suberkropp (2003)が行った実験では、高い栄養塩濃度条件下における真菌類と細菌類の組成の違いは酸素消費速度に大きく影響を及ぼす結果が得られている。一方、本実験では栄養塩添加系、非添加系のいずれも、地点間での酸素消費速度に大きな差は見られず、各地点間において真菌類や細菌類の活性に大きな差はなかったと推察される。しかしながら、栄養塩非添加系では、60 日目での U, D, E で窒素量が有意に異なることから、各地点での有機物への微生物作用が異なっていたことが考えられる。河川水中に含まれる細菌類は有機汚濁の程度によって有機物濃度に対して異なる応答を示す細菌群で構成されることが言われており(芳倉 et al., 1980)、細菌群については比較的汚濁の少ないと考えられる河川の上流域と、人為的影響が集積していると考えられる下流域でその構成が異なっていたことが推察される。

6.5.2. 異なる馴化過程を経たリター由来有機物が *Hediste* sp.の成長に及ぼす影響

馴化 60 日目のリターの C/N と *Hediste* sp.の成長率は負の関係を示し、特に、栄養塩非添加系ではリターの C/N が高く、*Hediste* sp.の成長率が低い傾向にあった。淡水系 U・D のリター中炭素含有量は栄養塩添加系と非添加系ともに馴化日数による変化が見られず、一方で、窒素含有

量は非添加系と比べ添加系で大きく増加したことから、炭素量に対する窒素量が制限となっていたことが推察される。さらに、リターの C/N が低かった栄養塩添加系の成長率は、地点によって異なり、海水系(EN)では成長率が低い傾向にあった。これは他の地点とくらべ馴化による窒素、炭素双方の減少が著しく、給餌量に対して獲得できる栄養分が相対的に低かったためと考えられる。生物体を構成する元素として一般的に C, N, P が特に重要な元素として挙げられるが、植物プランクトンの例ではレッドフィールド比として知られるように生物によって適した元素構成比が存在し、その構成比によって生物の成長が制限される場合がある。干潟二枚貝であるヤマトシジミの場合、微細藻類の給餌では藻類に含まれる窒素量に対し炭素量が成長の制限となる一方、窒素含有量の異なる陸上植物の給餌実験では、窒素量が成長に対して寄与していたとされる(片山 2013)。本実験では陸上植物の給餌により窒素量と比較して炭素量としては十分である。しかしながら、藻類、陸上植物を給餌した第五章の *Hediste* sp. の C/N は実験系に関わらず約 4 程度を示しており、動物が体内に取り入れた栄養分を、代謝を通して生物個体の体組成に近づける必要があるとすれば、餌として与えたリターは *Hediste* sp. の C/N より高いことになる。このことから、*Hediste* sp. の成長量に対してはリターの窒素含有量が制限となっており、栄養塩添加系における微生物の付着とそれによるリターへの窒素分の補充が、*Hediste* sp. によるリターの同化と成長を可能にしたことが考えられる。

近年、陸上植物由来有機物が河口沿岸域生物の栄養源として注目され始めている。地球温暖化への対策とも相まって、陸域における森林管理が見直されその保全や再生へ向けた活動が活発となってきている。本実験では陸上植物由来有機物がその馴化条件によって質的に大きく変化すること、さらにそれが河口域底生生物の成長に影響を及ぼすことが示された。これは、森林から供給される陸上植物由来有機物が沿岸域へ流下する過程や、栄養塩濃度など流下する河川環境で変質する可能性を示唆している。流域管理では森林の存在量が注目される傾向にあるが、流域において森林が存在するという事実だけではなく、人為的土地利用と

河川の栄養塩濃度や、陸上植物由来有機物が河川を流下し河口に堆積するまでの馴化条件など河口域生態系まで合わせて考慮する必要がある。

6.6. 結論

本章では異なる栄養塩濃度および植種源によるリターの馴化実験、および馴化実験で得られたリターを給餌した河口干潟底生生物 *Hediste* sp.の室内飼育実験によって、以下の知見が得られた。

- 1) リターの馴化環境条件によって、生成される有機物の質が大きく異なることがわかった。特に栄養塩添加によって馴化過程でリターの C/N は大きく低下し、栄養塩の添加と非添加で分解後のリターの C/N 等元素組成が変化することがわかった。さらに元素組成変化が海水系と淡水系で異なり、淡水系での C/N の低下は溶脱による炭素含有量の維持と窒素含有量の増加によるものである一方、海水系での C/N の低下は炭素含有量の大幅な低下によるものであることがわかった。
- 2) 馴化後のリターを用いた酸消費実験より、栄養塩添加系は栄養塩非添加系と比べ高い酸素消費速度を示す傾向にあった。高い栄養塩濃度で有機物分解が活発になっていたと考えられる。
- 3) 馴化されたリターを餌として与えた *Hediste* sp.の飼育実験において、給餌した炭素量あたりの成長量は栄養塩添加系で高くなる傾向が示された。栄養塩添加系で馴化されたリターの窒素含有量は高く、さらに細菌由来の脂肪酸を多く含む傾向にあったリターへの微生物付着とそれに伴う窒素含有量の増加が *Hediste* sp.の成長に寄与していたと推察される。
- 4) リターに含まれている総脂肪酸含有量は、60 日間で有意に変化せず、さらに実験前後の *Hediste* sp.の脂肪酸組成および量についても、総脂肪酸、陸上植物由来脂肪酸、細菌由来脂肪酸の各含有量に各実験系で差がなかった。リターおよび *Hediste* sp.に含まれていた脂肪酸の組成から *Hediste* sp.の成長を説明することはできなかった。

第六章参考文献

- Caraco, N.F., Lampman, G., Limburg, K.E., Pace, M.L., Fischer, D., 1998. Microbial assimilation of DIN in a nitrogen rich estuary: implications for food quality and isotope studies. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 167, 59–71.
- Cook, P.L.M., Veuger, B., Böer, S., Middelburg, J.J., 2007. Effect of nutrient availability on carbon and nitrogen incorporation and flows through benthic algae and bacteria in near-shore sandy sediment. *Aquat. Microb. Ecol.* 49, 165–180.
doi:10.3354/ame01142
- Frostegard, A., Baath, E., Frostegård, Å., Bååth, E., 1996. The use of phospholipid fatty acid analysis to estimate bacterial and fungal biomass in soil. *Biol. Fertil. Soils* 22, 59–65.
doi:10.1007/BF00384433
- Gulis, V., Suberkropp, K., 2003. Leaf litter decomposition and microbial activity in nutrient-enriched and unaltered reaches of a headwater stream. *Freshw. Biol.* 48, 123–134.
doi:10.1046/j.1365-2427.2003.00985.x
- Gulis, V., Suberkropp, K., 2003. Effect of inorganic nutrients on relative contributions of fungi and bacteria to carbon flow from submerged decomposing leaf litter. *Microb. Ecol.* 45, 11–19.
doi:10.1007/s00248-002-1032-1
- Klamer, M., Bååth, E., 2004. Estimation of conversion factors for fungal biomass determination in compost using ergosterol and PLFA 18:2 ω 6,9. *Soil Biol. Biochem.* 36, 57–65.
doi:10.1016/j.soilbio.2003.08.019
- 岡田紫恵奈, 伊藤潤, 吉村千洋, 増山貴明, 藤井学, 2012. 微細堆積物の特性および溶存酸素消費の関係. *土木学会論文集G(環境)* 68, 205–215.

芳倉太郎，石田祐三郎，小田国雄，飯田才一，1980. 河川水中の細菌群
集に及ぼす有機汚濁の影響 46, 967-975.

表-6.1 実験系および条件

実験系略語	植種源採取地点	栄養塩条件
E	広浦(Estuarine)	栄養塩非添加
D	広瀬(Downstream)	
U	青下(Upstream)	
EN	広浦(Estuarine)	栄養塩添加
DN	広瀬(Downstream)	
UN	青下(Upstream)	

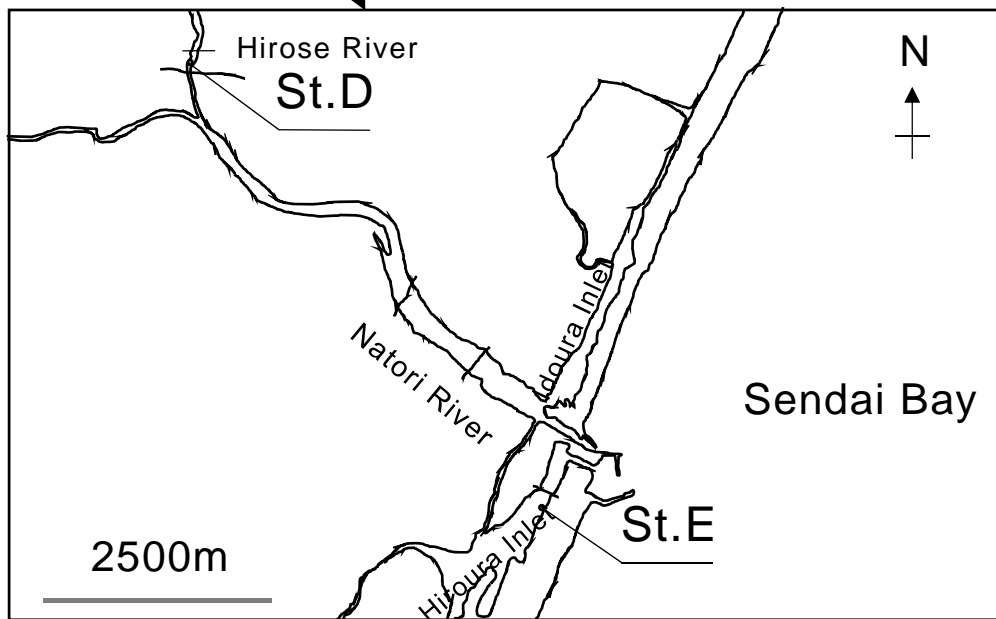
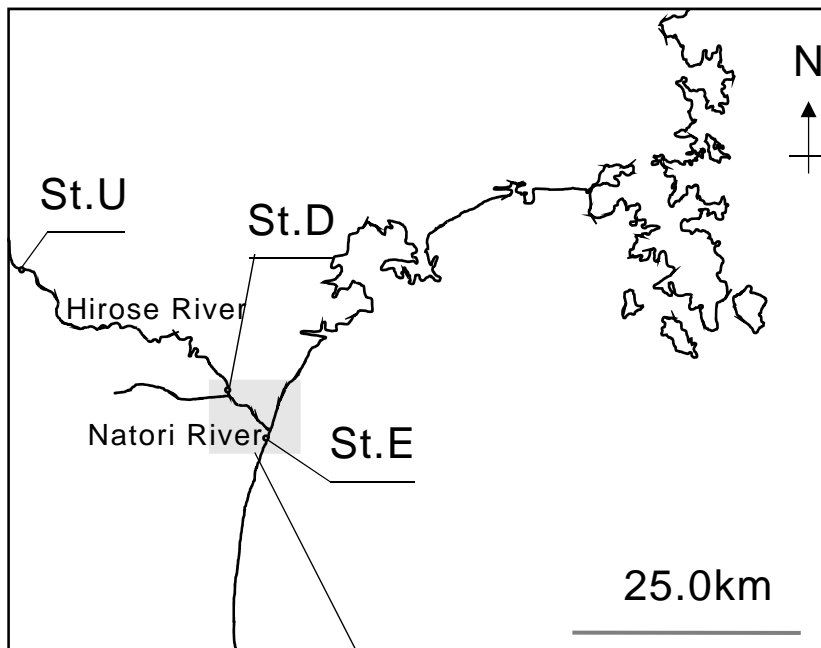


図-6.1 植種源および実験供試水の採取地点

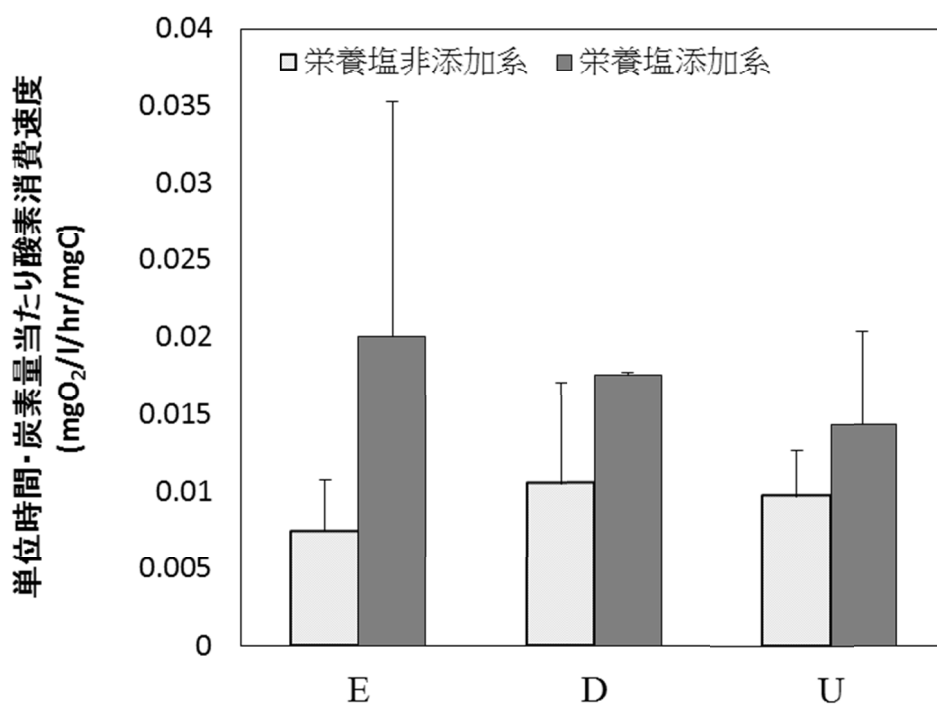


図-6.2 各実験系における単位炭素量当たり酸素消費速度

表-6.2 単位炭素量当たり酸素消費速度についての二元分散分析結果

	<i>df</i>	MS	<i>F</i>	<i>p</i>	
植種源採取地点	2	7.41E-06	0.14	0.88	
栄養塩条件	1	2.95E-04	5.38	0.04	*
植種源採取地点 × 栄養塩条件	2	2.54E-05	0.46	0.64	
残差	12	5.49E-05			

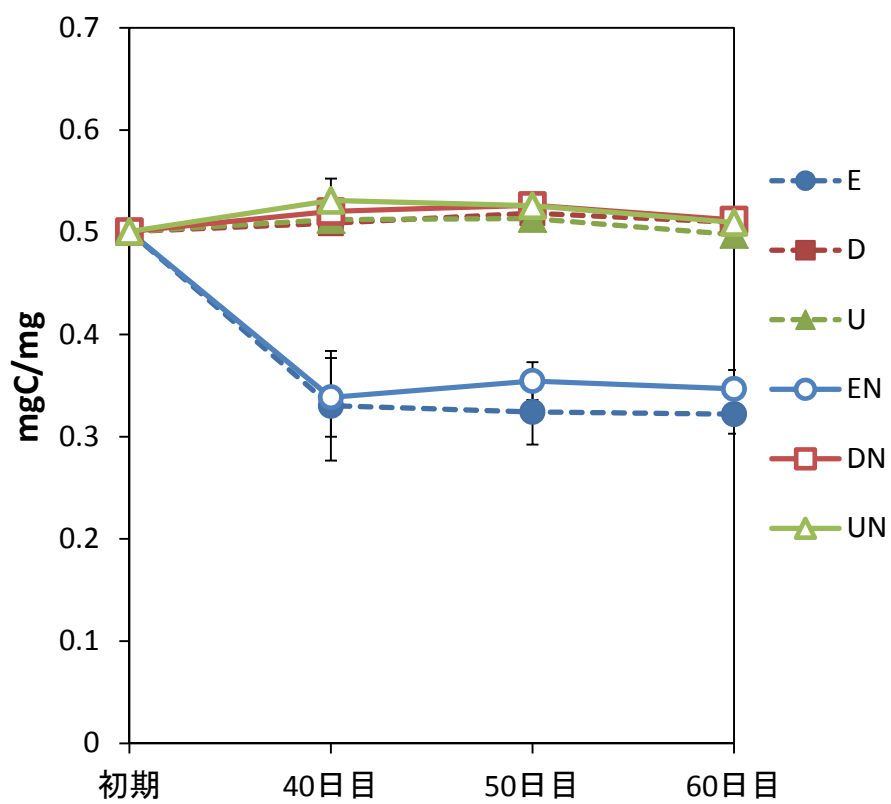


図-6.3 馴化実験におけるリター炭素含有量の経時変化

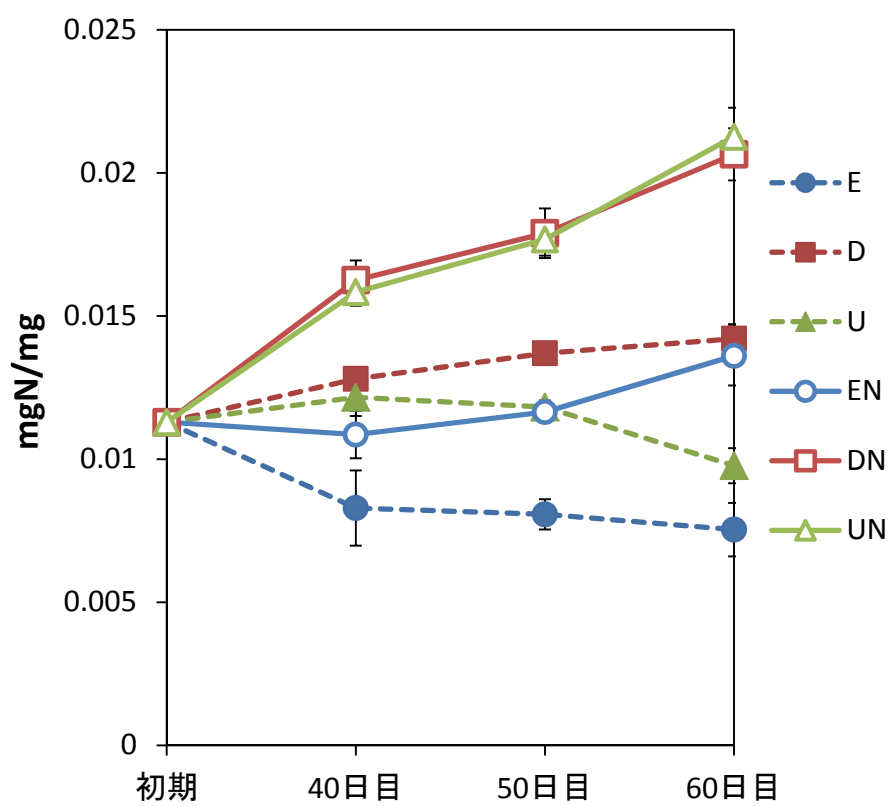


図-6.4 馴化実験におけるリター含有窒素量の経時変化

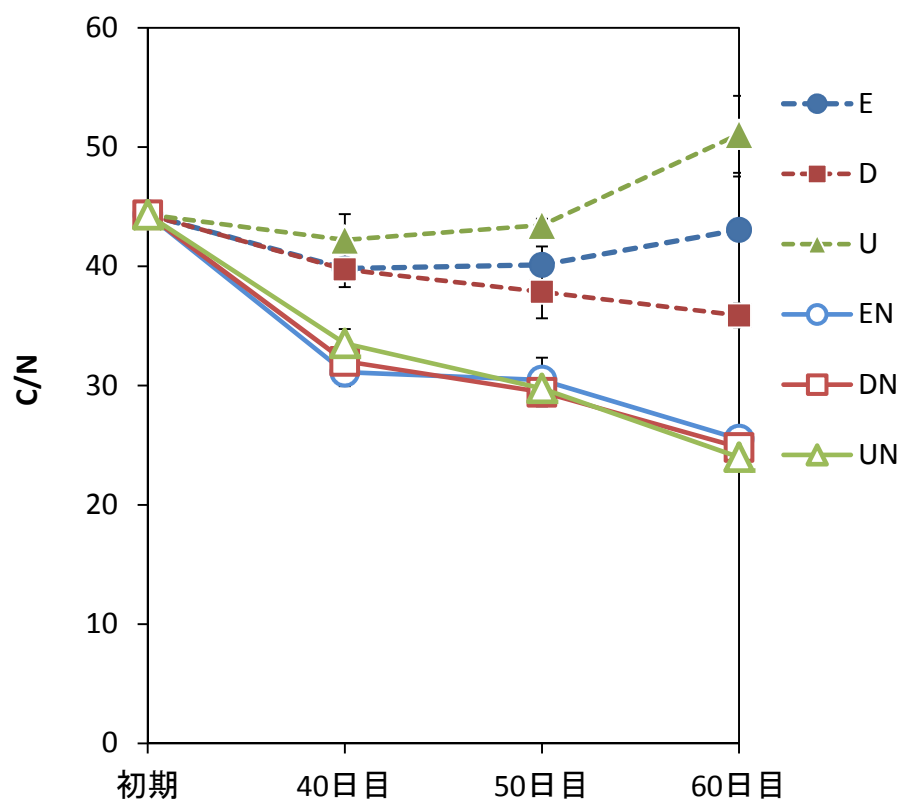


図-6. 5 馴化実験におけるリターの C/N の経時変化

表-6.3 初期リターの炭素, 窒素量および 60 日目リターの炭素量, 窒素量の変化率 (変化率: k)

実験系	C			N		
	mg/mg	k	p	mg/mg	k	p
initial	0.501±0.010	-	-	0.011±7.731E-5	-	-
E		-0.357±0.038	0.0001		-0.333±0.083	0.0023
D		0.018±0.010	0.25		0.258±0.045	0.0006
U		-0.006±0.002	0.64		-0.135±0.054	0.013
EN		-0.308±0.037	0.0002		0.205±0.092	0.0181
DN		0.023±0.012	0.17		0.829±0.081	<0.0001
UN		0.018±0.010	0.25		0.883±0.090	<0.0001

60 UN 1

馴化日数

実験系
表6.1参照

並列実験系の
識別番号

図-6.6 脂肪酸に関する各主成分分析図中記号の凡例
(*Hediste* sp.の脂肪酸については馴化日数の表記なし)

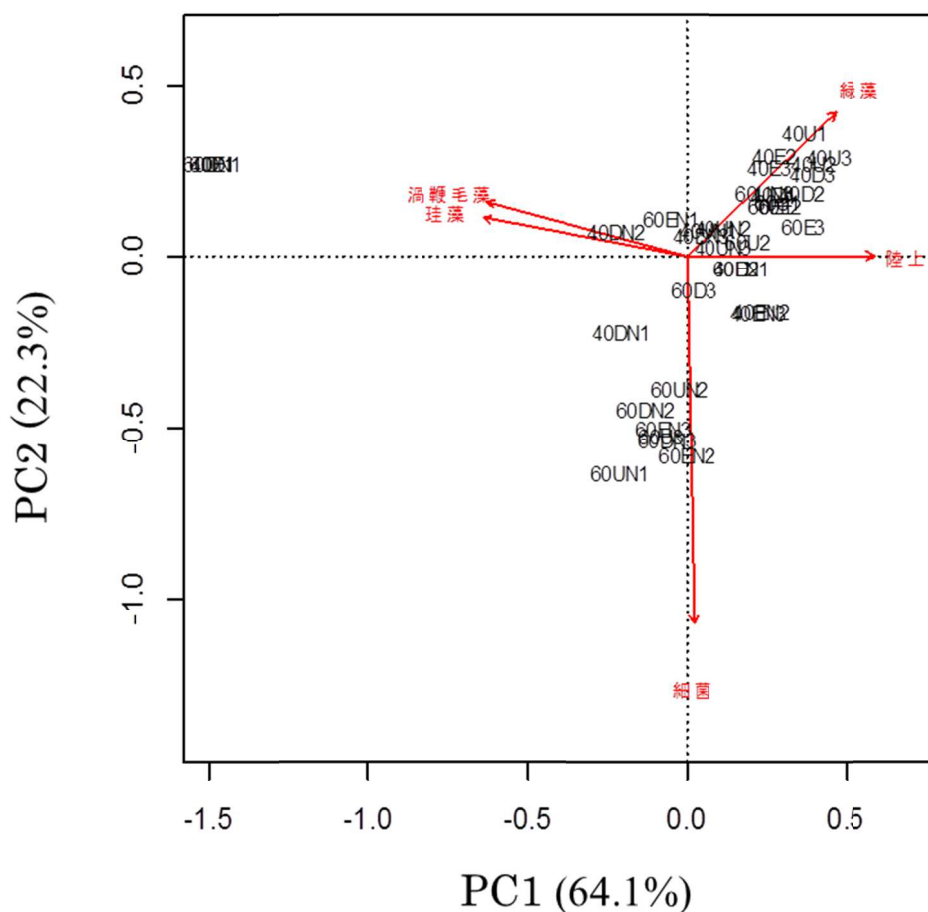


図-6.7 リターに含まれるマーカー脂肪酸含有割合による主成分分析結果

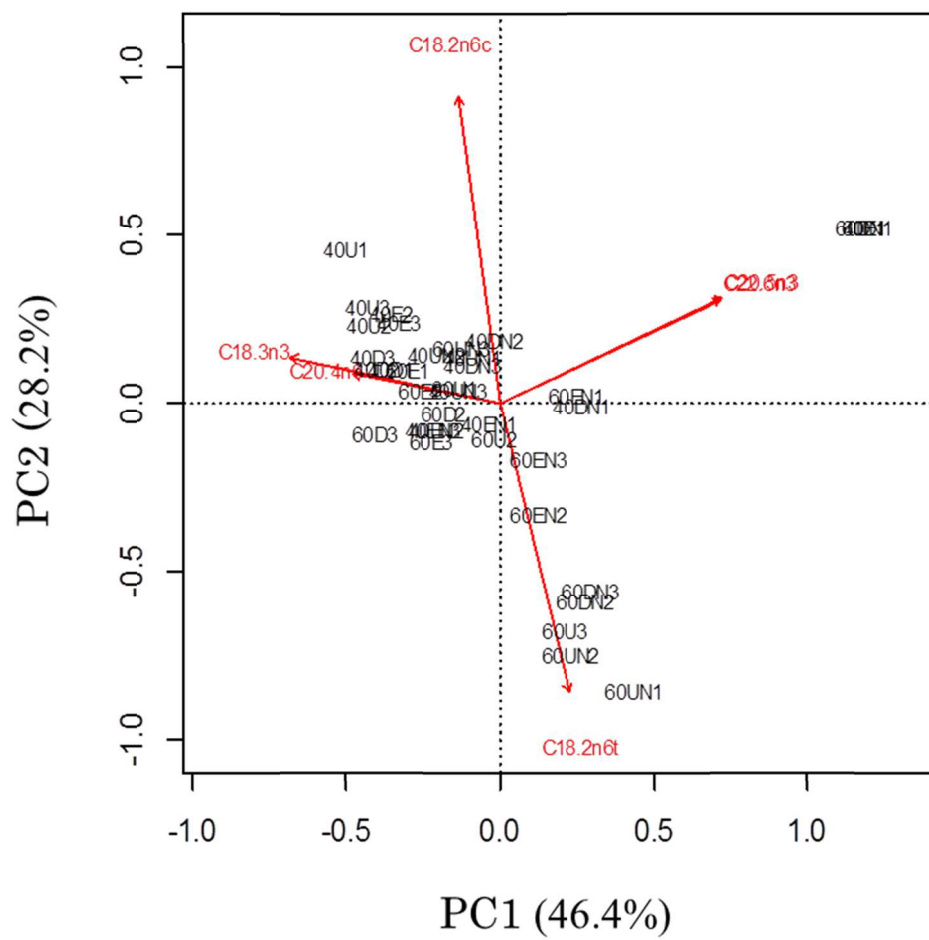
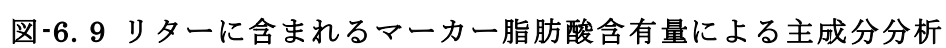


図-6. 8 リターに含まれる必須脂肪酸割合による主成分分析結果



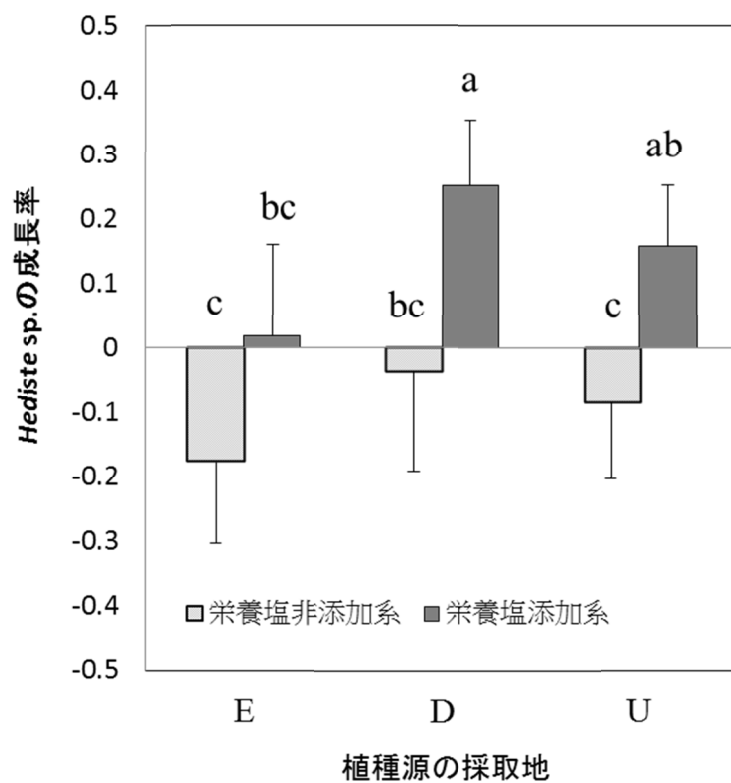


図-6. 11 各実験系における *Hediste* sp.の成長率および
Tukey-HSD 結果

表-6. 4 *Hediste* sp.成長率についての二元分散分析結果

	<i>df</i>	MS	<i>F</i>	<i>p</i>
植種源採取地点	2	0.18	4.02	0.03
栄養塩条件	1	0.3	6.55	0.02
植種源採取地点 × 栄養塩条件	2	0.04	0.81	0.45
残差	32	0.05		

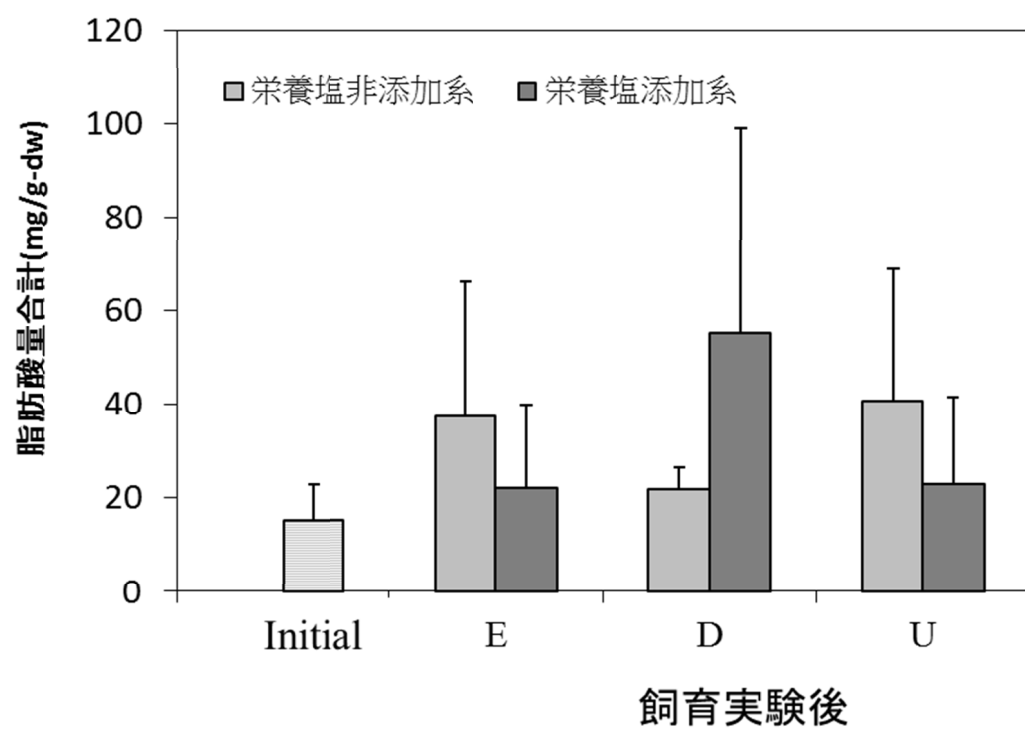


図-6. 12 *Hediste* sp.に含まれる脂肪酸量

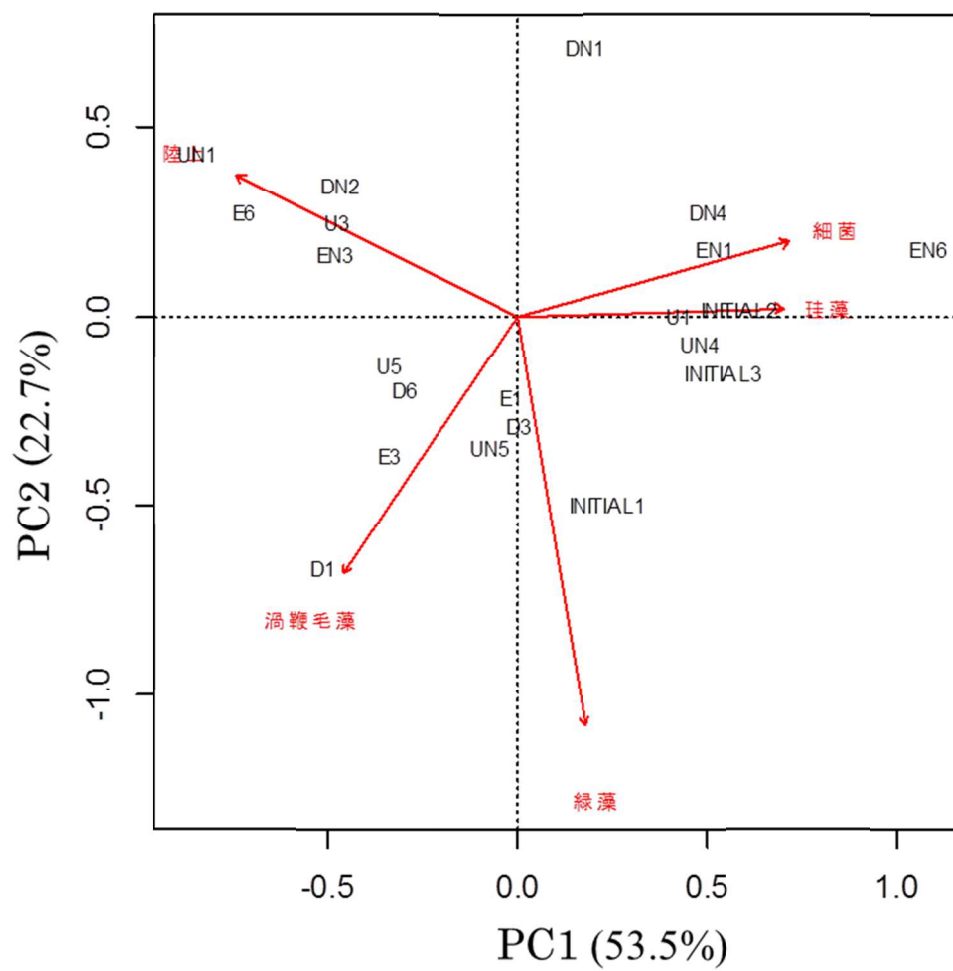


図-6. 13 飼育実験後の *Hediste* sp.に含まれるマーカ脂肪酸割合
(%: mg/mg-total FA)による主成分分析結果

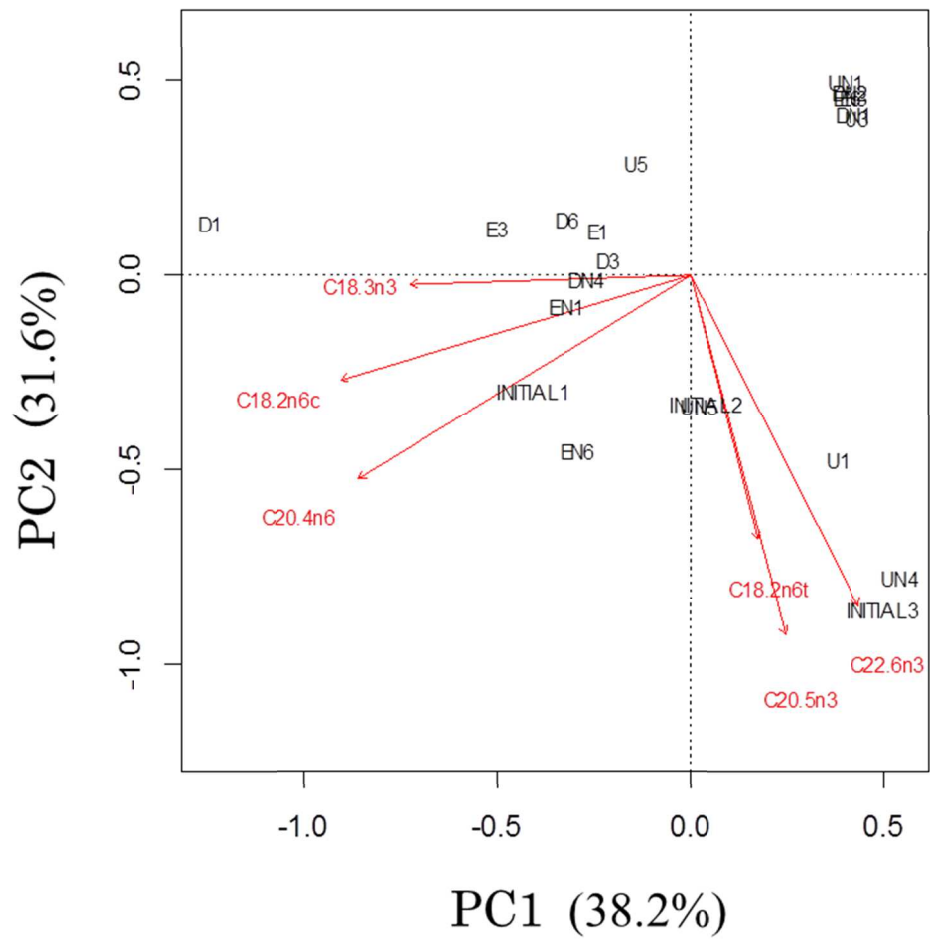


図-6. 14 飼育実験後の *Hediste* sp.に含まれる必須脂肪酸割合
(%: mg/mg-total FA)による主成分分析結果

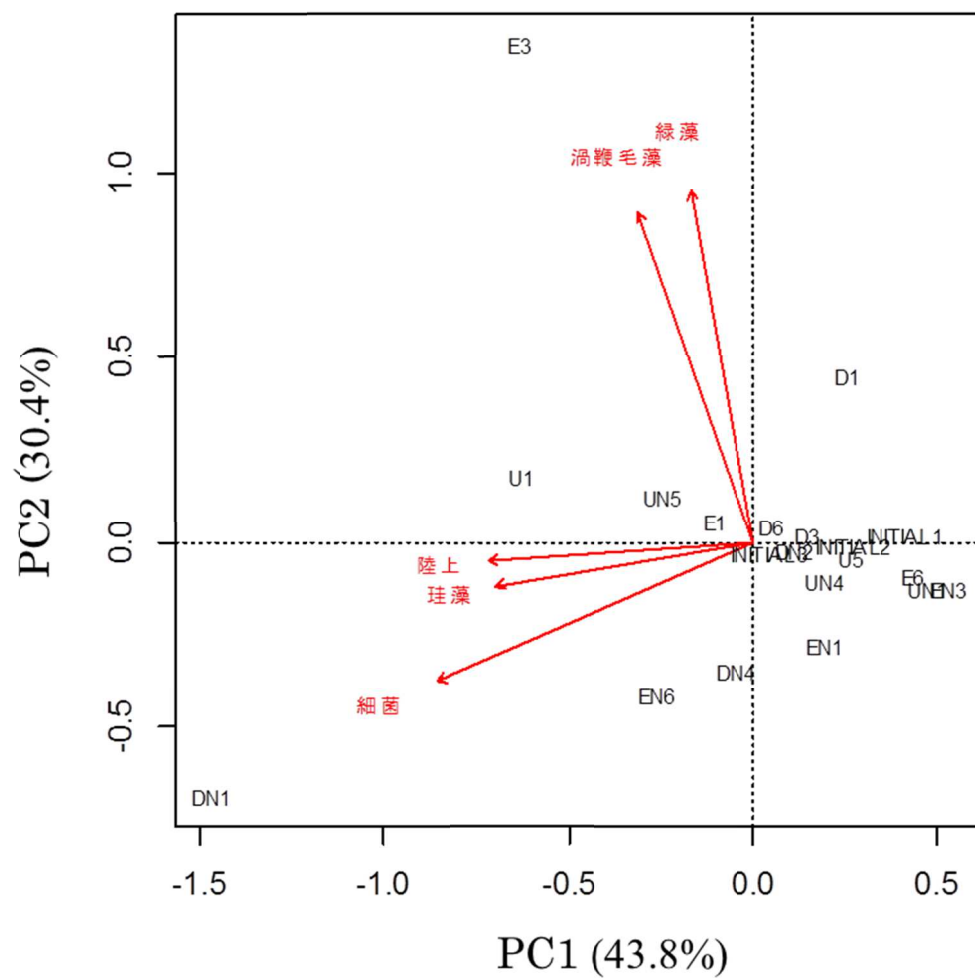


図-6. 15 飼育実験後の *Hediste* sp.に含まれるマーカー脂肪酸量 (mg/mg-dw-polychaete)による主成分分析結果

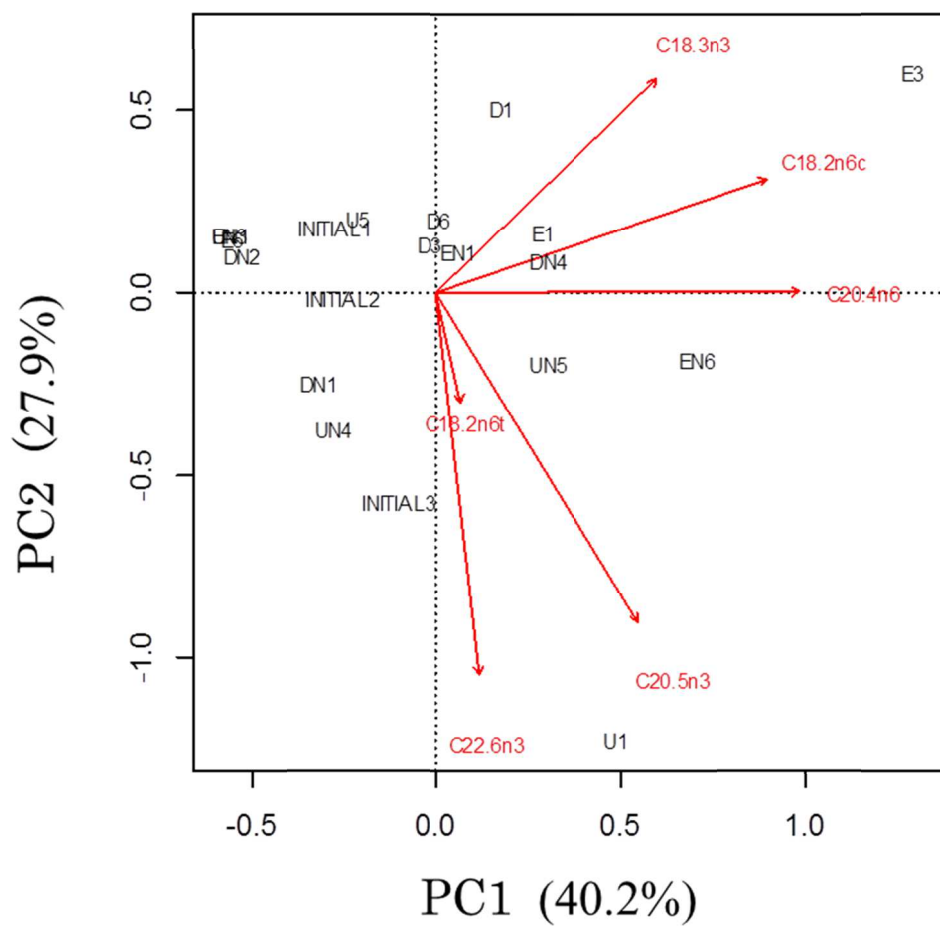
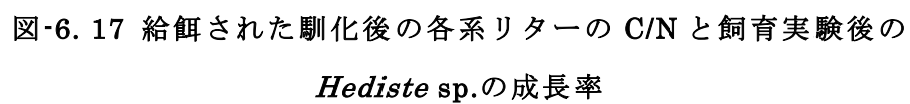


図-6. 16 飼育実験後の *Hediste* sp.に含まれる必須脂肪酸量
(mg/mg-dw-polychaete)による主成分分析結果



第七章 総括

7.1. 本研究の成果と課題

本研究では、河口干潟生態系に対する陸域での人為的影響を明らかにすることを目的として、まず、現場データの解析から、陸域の土地利用と河口干潟底質の関係について明らかにした。また、河口干潟底生生物群集についていくつかの機能群の生物密度と底質性状の関係および底生生物の種多様性指数と底質性状の関係を明らかにした。その結果、河口干潟の生態系に対し陸上植物由来有機物の堆積の重要性が示唆された。そこで次に、河口干潟の代表的な底生生物であり堆積物食者であることから底質と強い関係にあると考えられたゴカイ科 *Hediste* sp.に対して陸上植物由来有機物の給餌実験を行い、その成長に与える影響を明らかにした。脂肪酸分析および炭素安定同位体比分析によって *Hediste* sp.の陸上植物由来有機物の同化が微生物による分解活動を介して行われていること、さらに陸上植物有機物の分解が、その馴化の環境条件によって異なることを示した。

本研究より得られた成果を以下に総括する。

- 1) 沖縄本島内の多様な土地利用形態をもつ16流域について、土地利用、河川水質、河口干潟の関係を解析した結果、河口干潟底質性状を説明する因子として農地、市街地、森林で分類される流域内の土地利用面積割合の有効性が示唆された。また、流域内での農地・市街地等の人為的な土地利用は河川水中の栄養塩濃度を上昇させ、河口干潟底質における藻類由来有機物濃度を高めることが明らかになった。
- 2) 沖縄本島における陸上植物由来有機物の流出は主に降雨などの出水時に発生しているものと推察された。さらに、森林被覆面積割合と河口干潟における陸上植物由来有機物の堆積の関連性は、本研究で行ったような比較的小規模の河川、流域においても有意に認められることが明らかとなった。

- 3) 沖縄本島 16 河口干潟の底質調査より，16%以上の比較的高い含泥率を示す地点では，63 μ m 以下の微細粒子に含まれる有機物量が相対的に低く，高い含泥率の底質においては微生物による分解によると考えられた．底質性状と底生生物群集の関係から，摂餌・生息等の形態に基づく各種機能群の生息密度は，含泥率と細粒文中の有機物量によって大きく異なっていることがわかった．一方，種多様性は含泥率および細粒文中の有機物量では説明されず，藻類由来等の有機物に加え陸上植物由来有機物が混在する河口干潟で高いことが明らかとなった．
- 4) 河口干潟底生生物 *Hediste* sp.を用いた室内飼育実験では，藻類由来有機物は単一での給餌でも *Hediste* sp.の成長に対して効果的な餌源であることが示唆された．一方，陸上植物由来有機物単独では *Hediste* sp.の成長への寄与は認められなかった．しかしながら *Hediste* sp.の炭素安定同位体比の結果からは，*Hediste* sp.による陸上植物由来有機物の同化が示唆された．さらに，*Hediste* sp.に含まれていた細菌由来脂肪酸の炭素安定同位体比と給餌有機物量が有意な関係を示していたことから，*Hediste* sp.による細菌を介した陸上植物由来有機物の同化が確認された．
- 5) 微生物分解による陸上植物由来有機物の質的变化は，栄養塩濃度および植種源河川河口域の馴化条件によって異なることが明らかとなった．特に，高栄養塩濃度の河川水中での陸上植物由来有機物の分解では，微生物のリターへの付着と水中からの窒素同化により有機物の窒素含有量を増加させることが示唆された．さらに，陸上植物由来有機物は上記の過程を経て窒素含有量が増加することで *Hediste* sp.の成長に寄与することが示された．

以上，本論文では河口干潟生態系に対して陸域から河口域までを連続した環境として捉え，複数流域およびその河川，河口干潟を対象とした調査により，流域内での農地，市街地，森林の土地利用割合が河口干潟底質の化学的特徴を説明しうる因子であることを統計的に明らかにし

た．特に，陸上植物由来有機物の堆積を示す河口干潟底質の C/N は流域内の森林被覆面積の増加によって上昇し，河口域の生物群集構造の指標である生物多様性指数を高めることを示した．このことから，陸上植物由来有機物の堆積が河口干潟底生生物の生息に正の影響を及ぼしていることが示唆された．陸上植物由来有機物は分解過程の環境条件によって化学的特性が変化し，特に，栄養塩濃度の高い環境においては微生物による分解が活発となり，さらに河口干潟底生生物による陸上植物由来有機物の同化は付着している微生物を介して行われ，底生生物の成長に正の影響をおよぼしうることがわかった．

今後の課題として，本研究における沖縄本島の河川および河口干潟調査は静穏時に行われており，陸上植物由来有機物の堆積が出水時に発生しているという点については明確な証拠を示すことができていない．そのため，流域からの有機物流入の過程を明確にするうえでは，そのような出水の影響に関するデータの収集が必要と考えられる．また本研究では，*Hediste* sp.への有機物給餌実験について，藻類由来有機物，陸上植物由来有機物をそれぞれ独立した系として行い，質的に異なる各有機物が *Hediste* sp.の成長に与える影響について明らかにしたが，今後さらに，陸上植物由来有機物および藻類由来有機物が混合して存在するとき，有機物の化学的特徴の変化や底生生物の応答を明らかにすることで，流域環境と河口干潟生態系との関係をより明確にできるものと思われる．

7.2. 今後の展望

河口干潟は河川が流入し，陸域と連続的な関係であるにもかかわらず，河口干潟の生態系保全は流域とは独立した環境として取り上げられてきた．本研究では流域内の土地利用と河口干潟底質性状の関係，河口干潟底質性状と底生生物の関係を評価することで，流域内土地利用が河口干潟の底生生物に影響を及ぼし得ることを明らかにした．さらに，馴化条件の違いによって陸域起源有機物の質は変化し，それによって底生生物の成長が異なることがわかった．これらは，河川を流下し河口に堆積する陸域起源有機物の質や，その有機物に対する底生生物の応答が，有

機物の流下条件によって変化することを示唆している。そして、河口干潟生態系の保全においては、流域内土地利用割合に加え、有機物の流下環境までを考慮した流域管理の必要性を強く示している。

謝辞

本研究を遂行するに当たり、終始丁寧なご指導を賜り研究・学問に対する姿勢を教えてくださいました東北大学大学院工学研究科環境生態工学研究室教授西村修先生に深く感謝の意を表し御礼申し上げます。

また、琉球大学学部時代から6年半にわたり研究全般において日々暖かく辛抱強い御指導と貴重なご助言、そして博士課程への進学のお機会をいただきました同研究室准教授坂巻隆史先生に心より感謝いたします。また、研究や研究室活動において適切なご助言と暖かいご指導をいただきました同研究室助教野村宗弘先生に心より感謝いたします。

本研究を始めるにあたり、貴重なご助言と丁寧なご指導をいただきました東北大学大学院農学研究科応用生命科学専攻准教授大越和加先生、同研究科水産資源生態学分野助教伊藤絹子先生に深く感謝いたします。

脂肪酸をはじめ化学分析全般について懇切丁寧な御指導と現場調査への全面的なご協力をいただき、様々な相談にのってくださった東北大学大学院工学研究科技術職員千葉信男氏、丸尾千佳子氏、秋田県立大学生物資源科学部生物環境科学科生態工学研究室助教藤林恵先生に深く感謝いたします。研究室内における諸々の事務手続きをはじめ大学での生活を支えてくださった環境生態工学研究室秘書加藤明子氏に深く御礼申し上げます。

琉球大学在学時において調査に全面的に協力いただいた当山昌治氏、生態学の知見や生物の同定及び分析に多大なご助力をいただきました河井崇博士、鈴木祥平博士、吉田隆太博士、山村真以氏に感謝いたします。現場調査へのご助力に加え有意義な時間を与えてくださった山鹿典子氏、福田千絵氏、稲福政太氏、宮岡勇輝氏に感謝いたします。

そして本研究での実験、調査、また大学院生活全般に多大なご助力をいただきました東北大学大学院工学研究科環境生態工学研究室のみなさま、学部時代からこれまで暖かく見守り支えてくださった方々、本研究遂行までに尊い命を犠牲にさせていただいた干潟の生きとし生けるものたちに深く感謝いたします。

最後に，勉学，研究の機会を与えて頂き，最後まで根気強く支え暖かく見守ってくださった家族に感謝し謝辞とさせていただきます．